

## 自体脐血干细胞移植成功治愈儿童重型再生障碍性贫血\*

刘芳<sup>1</sup> 王书春<sup>1</sup> 陈霞<sup>1</sup> 张小燕<sup>1</sup> 任媛媛<sup>1</sup> 杨文钰<sup>1</sup> 陈晓娟<sup>1</sup> 郭晔<sup>1</sup> 竺晓凡<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探索自体脐血干细胞移植治疗儿童重型再生障碍性贫血的可行性及安全性。方法:自 2011 年 8 月—2020 年 3 月,确诊为获得性重型再生障碍性贫血且出生时留存自体脐血的 4 例患儿,其中男、女各 2 例,年龄分别为 3、4、7 和 12 岁,发病至自体移植时间间隔均值为 2 个月。移植预处理方案为:抗胸腺免疫球蛋白 2.5 mg/(kg·d)×5 d 联合环磷酰胺 40 mg/(kg·d)×2 d。回输脐带血单个核细胞及 CD34<sup>+</sup> 细胞总量分别为 (2.92~4.90)×10<sup>7</sup>/kg、(0.43~0.73)×10<sup>5</sup>/kg,3 例患儿在 0 天同时输注了自体脐带间充质干细胞 0.5×10<sup>6</sup>/kg。移植后+1 天给予重组人粒细胞集落刺激因子 5~10 μg/kg,皮下注射,至中性粒细胞植入。回输后+1 天开始口服环孢素 3~6 mg/(kg·d),移植后 6 个月开始缓慢减量至停药。随访时间截至 2020 年 8 月 31 日。结果:4 例患儿均获得了完全血液学缓解。中性粒细胞植入时间分别为移植后+16 天、+20 天、+29 天、+37 天,血小板植入时间分别为移植后+33 天、+27 天、+22 天、+40 天,血常规完全正常时间分别为回输后+59 天、+70 天、+86 天、+90 天。随访时间最长 107 个月,最短 6 个月,均未发生第二肿瘤、生长发育迟缓或脏器功能受损等不良反应,治疗过程中无严重不良事件发生。3 例自体脐血联合间充质干细胞移植的患儿停用环孢素后血常规稳定,1 例单纯脐血干细胞移植者需环孢素较长时间维持。结论:自体脐血干细胞移植治疗儿童重型再生障碍性贫血的疗效确定、安全,可作为此类重症疾病的治疗选择,联合间充质干细胞移植可能会促进更快速稳定的造血恢复。

**[关键词]** 自体脐血干细胞移植;儿童;获得性重型再生障碍性贫血;免疫抑制治疗

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2021.03.009

**[中图分类号]** R556.5 **[文献标志码]** A

## Successful autologous cord blood transplantation for pediatric acquired severe aplastic anemia

LIU Fang WANG Shuchun CHEN Xia ZHANG Xiaoyan REN Yuanyuan  
YANG Wenyu CHEN Xiaojuan GUO Ye ZHU Xiaofan

(Department of Pediatrics, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin, 300020, China)

Corresponding author: ZHU Xiaofan, E-mail: xfzhu@ihcams.ac.cn

**Abstract Objective:** To observe the efficacy and safety of autologous cord blood transplantation for children with acquired severe aplastic anemia(SAA). **Methods:** From August 2011 to March 2020, 4 children diagnosed as acquired SAA with autologous cord blood available were enrolled, including 2 boys and 2 girls, ranged from 3-12 years old. The average interval from onset to treatment time was 2 months. The conditioning regimen included antithymocyte globulin 2.5 mg/(kg·d) for 5 days and cyclophosphamide 40 mg/(kg·d) for 2 days. The total mononuclear cells and CD34 positive cells number was (2.92-4.90) × 10<sup>7</sup>/kg and (0.43-0.73) × 10<sup>5</sup>/kg, respectively. Three patients were co-infused with autologous mesenchymal stem cells at day 0 with the total number of 0.5×10<sup>6</sup>/kg. Recombinant human granulocyte colony stimulating factor was subcutaneously injected with 5-10 μg/kg until neutrophil engraftment from day 1. Cyclosporine A was initiated from day 1 for 6 months and then tapered slowly. All the patients were followed-up to August 31, 2020. **Results:** All 4 children had a complete hematologic response, with the interval to achieving normal blood counts of 59 days, 70 days, 86 days and 90 days, respectively. The time to neutrophil engraftment was day+16, day+20, day+29, day+37, respectively, and the time to platelet engraftment was day+33, day+27, day+22 and day+40, respectively. Follow-up time ranged from 6 months to 107 months, during which there were no obvious adverse events such as second malignant tumors, growth retardation or organ dysfunction. Interestingly, children with mesenchymal stem cells co-transplanted had stable hematologic response, while 1 patient received continuous cyclosporine A maintenance treatment. **Conclusion:** Autologous umbilical cord blood transplantation combined with cyclosporine A is safe and effective and might be considered as initial therapy for acquired SAA patients. Co-infusing mesenchymal stem cells with autologous umbilical cord blood transplantation may promote stabilized hematopoietic recovery.

\*基金项目:国家自然科学基金面上项目(No:81421002)

<sup>1</sup>中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),实验血液学国家重点实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,儿童血液病中心(天津,300020)

通信作者:竺晓凡, E-mail: xfzhu@ihcams.ac.cn

**Key words** autologous umbilical cord blood transplantation; children; acquired severe aplastic anemia; immunosuppressive treatment

获得性重型再生障碍性贫血(severe aplastic anemia, SAA)是一种后天获得性造血衰竭性疾病,多由于免疫系统对骨髓造血干祖细胞的自我攻击,导致骨髓血细胞增生低下及全血细胞减少,常由于严重感染、出血而危及患者生命<sup>[1]</sup>。SAA的治疗目前首选同胞全相合的异基因造血干细胞移植<sup>[2]</sup>,无同胞相合供者可考虑抗人胸腺细胞球蛋白(anti-thymocyte globulin, ATG)联合环孢素的免疫抑制治疗<sup>[3]</sup>。令人惋惜的是,在我国儿童患者常难以获得合适的同胞供者,而接受免疫抑制治疗的患儿仅约2/3有效<sup>[3]</sup>,若未能获得有效治疗,约40%的SAA患儿将在诊断后的5年内死于感染或出血<sup>[4]</sup>。新生婴儿的脐带血中含有大量的干细胞,脐血干细胞的纯度较高、病毒污染少,同样具有自我更新、多向分化的干细胞特性,较易获得、且易于储存,已证实可提供稳定的造血植入<sup>[5-6]</sup>。异基因脐血干细胞移植治疗骨髓衰竭性疾病的确切疗效已获得广泛共识,而自体脐血干细胞移植的经验则罕有报道。本研究尝试利用自体脐血干细胞移植联合环孢素治疗4例获得性SAA患儿,均获得了早期且稳定的造血恢复,且安全性好,或许可以为这类重症患儿提供一种新的治疗选择。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

自2011年8月—2020年3月,确诊为获得性

SAA,且出生时于我国公共脐血库留存有自体脐血干细胞的共4例患儿,男、女各2例,其中3例同时留存了自体脐带来源的间充质细胞,发病年龄分别为4岁、7岁、3岁及12岁。自诊断至接受自体脐血干细胞移植的时间间隔均值为2个月。移植前血常规均达超重型标准,最低值范围分别为:白细胞 $0.61 \times 10^9/L \sim 2.70 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞 $0.07 \times 10^9/L \sim 0.20 \times 10^9/L$ ,血红蛋白 $50 \sim 73 \text{ g/L}$ ,血小板 $1 \times 10^9/L \sim 7 \times 10^9/L$ ,网织红细胞绝对值 $3.7 \times 10^9/L \sim 17.1 \times 10^9/L$ (表1)。4例患儿均无同胞移植条件,自体移植前患儿监护人均已充分知情并签署知情同意书。

### 1.2 治疗方案

预处理方案:兔ATG  $2.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d}) - 6 \sim -2 \text{ d}$ ,环磷酰胺  $40 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d}) - 8 \sim -7 \text{ d}$ 。0 d回输自体脐血干细胞,除病例3因未同时留存自体间充质细胞,其余患儿均0天同时回输自体脐带来源间充质细胞 $0.5 \times 10^6/\text{kg}$ 。回输脐带血单个核细胞及CD34<sup>+</sup>细胞总量分别为 $2.92 \times 10^7/\text{kg} \sim 4.90 \times 10^7/\text{kg}$ , $0.43 \times 10^5/\text{kg} \sim 0.73 \times 10^5/\text{kg}$ 。移植后+1天开始给予重组人粒细胞集落刺激因子 $5 \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,皮下注射,直至中性粒细胞植入;回输后+1天开始口服环孢素 $3 \sim 6 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,6个月开始缓慢减量至停药。

表1 4例患儿基线资料

项目	病例1	病例2	病例3	病例4
性别	男	女	男	女
年龄/岁	4	7	3	12
移植前最低白细胞/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	2.69	2.20	2.70	0.61
移植前最低中性粒细胞/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	0.07	0.20	0.15	0.09
移植前最低血红蛋白/ $(\text{g} \cdot L^{-1})$	51	73	70	50
移植前最低网织红细胞值/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	5.0	7.9	17.1	3.7
移植前最低血小板/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	4	7	6	1
回输单个核细胞量/ $(\times 10^7 \cdot \text{kg}^{-1})$	2.92	3.85	4.90	4.30
回输CD34 <sup>+</sup> 细胞量/ $(\times 10^5 \cdot \text{kg}^{-1})$	0.53	0.52	0.73	0.43
同时输注间充质细胞	是	是	否	是

### 1.3 疗效判断

①完全有效(complete response, CR):血红蛋白 $\geq 110 \text{ g/L}$ ,血小板 $\geq 100 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞绝对值 $\geq 1.5 \times 10^9/L$ 。②部分有效(partial response, PR):未达CR标准,但血细胞计数较基线值明显上升,分别为血红蛋白上升值 $\geq 15 \text{ g/L}$ ,血小板上升值 $\geq 20 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞绝对值上升

值 $\geq 0.5 \times 10^9/L$ 。或脱离血制品输注(连续至少4周内未输注血小板或红细胞)。③无效:未达上述任何标准。④中性粒细胞植入:中性粒细胞绝对值持续3 d $\geq 0.5 \times 10^9/L$ 的第一天,判定为粒细胞植入时间。⑤血小板植入:未输注血小板的情况下,血小板绝对值持续7 d $\geq 20 \times 10^9/L$ 的第一天,判定为血小板植入时间。

随访时间截至 2020 年 8 月 31 日,采用门诊随访结合电话询问方式随访,随访时间分别为 107 个月、58 个月、54 个月、6 个月。

## 2 结果

### 2.1 疗效

4 例患儿均获得了稳定的造血恢复,中性粒细胞植入时间分别为移植后+16 天、+20 天、+29 天、+37 天,血小板植入时间分别为移植后+33 天、+27 天、+22 天、+40 天,血常规完全正常时间分别为移植后+59 天、+70 天、+86 天、+90 天。截至末次随访时间,4 例患儿均为血液学 CR 状态,病例 1、病例 2 在移植后 1 年将环孢素逐渐减停,病例 4 开始缓慢环孢素减量,均血常规稳定。值得注意的是,病例 3 在移植后 4 个月曾出现血小板下降至  $30 \times 10^9/L$ ,经调整环孢素药量、同时给予促血小板生成素 TPO 治疗,血常规逐渐再次达到 CR 至今,至随访截止时间仍未能完全停用环孢素(表 2)。

表 2 自体脐血移植后疗效

	病例 1	病例 2	病例 3	病例 4
中性粒细胞植入时间/+d	16	20	29	37
血小板植入时间/+d	33	27	22	40
达 CR 时间/+d	59	70	86	90
移植后合并 CMV 感染	否	否	否	否
移植后合并 EBV 感染	否	否	否	否
移植后+3 个月疗效	CR	CR	CR	CR
移植后+6 个月疗效	CR	CR	PR	CR
移植后+1 年疗效	CR	CR	CR	未达到
移植后+1 年环孢素停药	是	是	否	未达到

### 2.2 不良事件

治疗过程中无严重不良事件发生,干细胞输注过程中无明显头痛、恶心、呕吐、皮疹、腹痛等不适,粒细胞缺乏期 4 例患儿均有发热,病例 1 发生口腔溃疡,病例 2 发生肛周感染,病例 4 发生鼻窦炎急性发作,治疗后均获治愈。至随访截止时间,4 例患儿生活质量良好,无慢性排异或机会性感染,未发生第二肿瘤、生长发育迟缓或脏器功能受损等不良反应。

## 3 讨论

SAA 是一种严重威胁儿童健康的造血系统衰竭性疾病,目前确切病因尚未能完全肯定,大量的临床经验及实验室证据表明,经免疫系统介导、攻击骨髓中自体造血干祖细胞致其损伤甚至枯竭,可能是本病的发病机制<sup>[1]</sup>。亲缘 HLA 配型完全相合的造血干细胞移植技术,已被证实是可以治愈此病的首选<sup>[7]</sup>。同样,以 ATG 联合环孢素的免疫抑制治疗,通过阻断针对自体干祖细胞的异常免疫攻

击,亦可以作为一种治疗选择<sup>[8]</sup>。

然而,我国目前的现实是大多数患儿难以获得完全相合的同胞供者;非血缘骨髓库配型成功概率较低、等待时间长;HLA 配型不全相合的亲缘单倍体移植存在植入失败率高、移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)发生率高的风险。免疫抑制治疗则血常规恢复缓慢,免疫抑制治疗后 3 个月仅约 30%~40% 的患者可以获得血液学 CR,在漫长的等待过程中,感染、出血等致死的风险仍然存在<sup>[9]</sup>。

利用自体外周血动员或脐带血来源的干细胞移植可以成功避免 GVHD 的风险,然而植入成功率低下、干细胞来源等分别限制了上述移植技术的开展,故此前鲜有自体干细胞移植成功治疗 SAA 的报道。Koza 等、Frangoul 等学者曾以大剂量环磷酰胺(200 mg/kg)为主要预处理方案,动员自体外周血干细胞,成功治疗了 3 例成人 SAA;Fruchtman 等以 ATG 为主要预处理方案、Buchbinder 等则采用氟达拉滨联合小剂量环磷酰胺的预处理方案,通过自体脐血干细胞移植治愈了 2 例儿童 SAA 患者<sup>[10-15]</sup>。近些年来,逐渐有更多的学者尝试应用自体脐血移植治疗儿童获得性 SAA 并且获得了成功,Sun 等<sup>[16]</sup>采用小剂量 ATG 联合氟达拉滨、环磷酰胺为预处理方案,回输自体脐血干细胞的 0 天同时输注非血缘脐带来源间充质细胞,成功治疗了 4 例患儿,4 例患儿均在移植后 30 d 内获得了粒细胞及血小板植入。在我们的研究中,则采用 ATG 联合较小剂量环磷酰胺作为预处理方案,回输自体脐血干细胞,回输后联合环孢素维持治疗,同样取得了满意的效果,4 例患儿均在 40 d 内脱离了粒细胞缺乏及输血依赖,中性粒细胞植入的中位时间为 24.5 天,血小板植入的中位时间为 30 天,植入时间和异基因脐血干细胞移植治疗获得性 SAA 的植入时间相当<sup>[17]</sup>,但却避免了异基因移植移植物排异的风险;所有患儿均在 3 个月内获得了完全血液学缓解,又较传统免疫抑制治疗的疗效具有显著优势<sup>[18]</sup>。

间充质细胞由 Friedenstein 于 1966 年首次发现描述,是组成骨髓微环境基质的重要部分,可多向分化为成纤维细胞、网状细胞、脂肪细胞等,是形成骨髓“造血龕”的重要基础,此后发现间充质细胞同时存在于多种组织中,如胎盘、新生儿脐带等。多种研究证明间充质细胞不仅具有分化形成骨髓基质、调节免疫的作用,还可同时分泌多种细胞因子促进造血干细胞的归巢及增殖分化<sup>[19]</sup>。目前临床应用的间充质细胞多由新生儿脐带来源培养获得<sup>[20]</sup>。已有临床研究证实,间充质细胞联合异基因造血干细胞移植治疗 SAA 可以获得更快且稳定的造血植入。值得引起关注的是,在我们的研究

中,同时输注了自体脐带间充质细胞的3例患儿均获得了长期稳定的造血恢复,且并不依赖免疫抑制剂环孢素;另1例单纯自体脐血干细胞输注的患儿则出现了血常规波动,且呈现环孢素依赖。其中原因尚不清楚,或许与间充质干细胞参与形成造血微环境、促进造血干细胞归巢植入等上述特性相关,但确切相关性还需要更大宗的临床研究验证。

近年来我国脐血库蓬勃发展,越来越多的家长选择为新出生的子女留存脐血。我们的研究结果是令人鼓舞的,证实自体脐血干细胞移植治疗儿童获得性SAA可获得稳定的造血重建,治疗过程安全,且干细胞获得无痛苦、无异基因干细胞移植GVHD的风险,可以作为此类患儿一项新的治疗选择。

#### 参考文献

- [1] Young NS, Calado RT, Scheinberg P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia[J]. *Blood*, 2006, 108(8): 2509-2519.
- [2] Kahl C, Leisenring W, Deeg HJ, et al. Cyclophosphamide and antithymocyte globulin as a conditioning regimen for allogeneic marrow transplantation in patients with aplastic anaemia; a long-term follow-up [J]. *Br J Haematol*, 2005, 130(5): 747-751.
- [3] Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, et al. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia[J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(5): 430-438.
- [4] Valdez JM, Scheinberg P, Nunez O, et al. Decreased infection-related mortality and improved survival in severe aplastic anemia in the past two decades[J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 52(6): 726-735.
- [5] Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients[J]. *N Engl J Med*, 1996, 335(3): 157-166.
- [6] Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1989, 86(10): 3828-3832.
- [7] Kurre P, Johnson FL, Deeg HJ. Diagnosis and treatment of children with aplastic anemia, *Pediatr* [J]. *Blood Cancer*, 2005, 45(6): 770-780.
- [8] Frickhofen N, Kaltwasser JP, Schrezenmeier H, et al. Treatment of aplastic anemia with antilymphocyte globulin and methylprednisolone with or without cyclosporine. The German Aplastic Anemia Study Group [J]. *N Engl J Med*, 1991, 324(19): 1297-1304.
- [9] Willis L, Rexwinkle A, Bryan J, et al. Recent developments in drug therapy for aplastic anemia [J]. *Ann Pharmacother*, 2014, 48(11): 1469-1478.
- [10] Koza V, Jindra P, Svojkrova M, et al. Successful autologous transplantation in a patient with severe aplastic anemia (SAA) [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1998, 21(9): 957-959.
- [11] Balint B, Stamatovic D, Todorovic M, et al. Autologous transplant in the treatment of severe aplastic anemia-A case report [J]. *Transf Apher Sci*, 2011, 45(2): 137-141.
- [12] Frangoul H, Navarro WH, Confer DL, et al. Infusion of autologous peripheral blood stem cells in an unrelated donor who developed severe aplastic anemia following stem cell donation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2012, 47(6): 869.
- [13] Fruchtman SM, Hurler A, Dracker R, et al. The successful treatment of severe aplastic anemia with autologous cord blood transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2004, 10(11): 741-742.
- [14] Rosenthal J, Woolfrey AE, Pawlowska A, et al. Hematopoietic cell transplantation with autologous cord blood in patients with severe aplastic anemia: an opportunity to revisit the controversy regarding cord blood banking for private use [J]. *Pediatric Blood Cancer*, 2011, 56(7): 1009-1012.
- [15] Buchbinder D, Hsieh L, Puthenveetil G, et al. Successful autologous cord blood transplantation in a child with acquired severe aplastic anemia [J]. *Pediatr Transplant*, 2013, 17(3): E104-E107.
- [16] Sun Y, Liu Z, Xiao J, et al. Autologous cord blood transplantation in children with acquired severe aplastic anemia [J]. *Pediatric Transplant*, 2019, 23(1): e13325.
- [17] Peffault de Latour R, Chevret S, Jubert C, et al. Unrelated cord blood transplantation in patients with idiopathic refractory severe aplastic anemia: a nationwide phase 2 study [J]. *Blood*, 2018, 132(7): 750-754.
- [18] Narita A, Zhu X, Muramatsu H, et al. Prospective randomized trial comparing two doses of rabbit antithymocyte globulin in patients with severe aplastic anaemia [J]. *Br J Haematol*, 2019, 187(2): 227-237.
- [19] Fajardo-Orduña GR, Mayani H, Montesinos JJ. Hematopoietic Support Capacity of Mesenchymal Stem Cells: Biology and Clinical Potential [J]. *Arch Med Res*, 2015, 46(8): 589-596.
- [20] Gong W, Han Z, Zhao H, et al. Banking human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells for clinical use [J]. *Cell Transplant*, 2012, 21(1): 207-216.

(收稿日期:2020-09-23)