

脐带间充质干细胞治疗重度急性移植物抗宿主病安全有效

张凌风¹ 韩奇洋¹ 张晓颖¹ 陈尚钧¹ 方玥琨¹ 杨秀秀¹ 黄巧林¹ 王娜¹ 张义成^{1,2}

¹华中科技大学同济医学院附属同济医院血液内科,湖北武汉 430030

²器官移植教育部重点实验室,国家卫生健康委员会器官移植重点实验室,中国医学科学院器官移植重点实验室,湖北武汉 430030

摘要 目的:探讨脐带间充质干细胞(MSCs)治疗异基因造血干细胞移植后急性移植物抗宿主病(aGVHD)的疗效与安全性。方法:回顾性分析接受免疫抑制剂联合脐带 MSCs 治疗的Ⅲ度以上 aGVHD 患者 30 例,描述患者一般情况及预后、MSCs 疗效及安全性,比较回输时间点对疗效的影响及回输前后患者血象变化情况。结果:30 例患者总体客观缓解率为 70%,其中 17 例(56.67%)完全缓解,4 例(13.33%)部分缓解,9 例(30%)无效。患者使用 MSCs 期间均未出现输注相关不良反应。中位随访时间为 165(27,1 398)d,3 年总体生存期为 53.08%。发病 2 周内回输 MSCs 的疗效优于 2 周后回输($P < 0.05$)。回输 MSCs 30 d 后白细胞、中性粒细胞及血小板计数减少(P 均 < 0.05)。结论:脐带 MSCs 治疗移植后重度 aGVHD 是安全有效的。

关键词 异基因造血干细胞移植;急性移植物抗宿主病;脐带间充质干细胞;疗效

中图分类号 R457.7 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzz20250109

Efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of severe acute graft-versus-host disease ZHANG Ling-feng, HAN Qi-yang, ZHANG Xiao-ying, CHEN Shang-jun, FAN Yue-kun, YANG Xiu-xiu, HUANG Qiao-lin, WANG Na, ZHANG Yi-cheng. ¹Department of Hematology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; ²Key Laboratory of Organ Transplantation, Ministry of Education; NHC Key Laboratory of Organ Transplantation; Key Laboratory of Organ Transplantation, Chinese Academy of Medical Sciences, Hubei Wuhan, 430030, China

Corresponding author: Yicheng Zhang, E-mail: yczhang@tjh.tjmu.edu.cn

Abstract Objective: To investigate the therapeutic efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cells (MSCs) in treating acute graft-versus-host disease (aGVHD) following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Methods: A retrospective analysis was conducted on 30 patients with grade III or higher aGVHD who underwent immunosuppressive agents combined with umbilical cord MSCs treatment. The patients' general conditions and prognoses, along with the efficacy and safety of MSCs treatment, were described. The study compared the effects of different infusion timing on the treatment outcome and analyzed the changes in blood counts before and after the infusion. Results: The overall objective response rate (ORR) among the 30 patients was 70%, with 17 patients achieving complete remission (CR), 4 patients achieving partial remission (PR), and 9 patients showing no response (NR). Throughout the use of MSCs, no infusion-related adverse reactions were reported by the patients. The median follow-up duration was 165 days (range 27 to 1398 days), with a 3-year overall survival (OS) rate of 53.08%. Infusing MSCs within 2 weeks of symptom onset led to superior efficacy compared to infusing them after 2 weeks ($P < 0.05$). At 30 days post-MSCs infusion, white blood cell count, neutrophil count, and platelet count were reduced ($P < 0.05$). Conclusion: Umbilical cord MSCs are both effective and safe in treating severe aGVHD post-transplantation.

Key words Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; Acute graft-versus-host disease; Umbilical cord mesenchymal stem cells; Curative effect

异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)是治疗多种血液系统疾病,如急性白血病、骨髓增生异常综合征

(myelodysplastic syndromes, MDS)、重型再生障碍性贫血(severe aplastic anemia, SAA)等最有效的手段之一。急性移植物抗宿主病(acute graft-versus-host

disease, aGVHD)是移植后最为常见的并发症,能够诱发严重的器官功能损害,也是导致移植失败和患者死亡的主要原因之一^[1,2]。糖皮质激素是 aGVHD 的一线治疗选择,但多达 50% ~ 60% 的患者表现为激素难治^[3],二线药物如芦可替尼(JAK 抑制剂)等目前也并未能够展示出令人信服的疗效^[4]。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种来源于中胚层的干细胞,具有低免疫原性、多向分化潜能及免疫调控等特点,具有强大组织修复功能及抗炎作用^[5]。本研究回顾性分析 30 例患者数据,以探讨脐带 MSCs 治疗 aGVHD 的疗效与安全性。

资料与方法

1. 一般资料:2021 年 1 月-2023 年 12 月于华中科技大学同济医学院附属同济医院血液科接受免疫抑制剂联合脐带 MSCs 治疗 aGVHD 的 30 例患者。其中男 21 例,女 9 例,年龄 15 ~ 62 岁,中位年龄 36.5 岁。原发病为血液系统恶性疾病 27 例,其中急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML) 15 例,急性淋巴细胞白血病(acute lymphocytic leukemia, ALL) 5 例,骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS) 3 例,T 细胞淋巴瘤母细胞淋巴瘤(T cell lymphoblastic lymphoma, T-LBL) 2 例,骨髓增殖性肿瘤/慢性髓性白血病(myeloproliferative neoplasms/chronic myeloid leukemia, MPN/CML)各 1 例,其余 3 例为 SAA。患者均经实验室、影像学检查和/或组织病理等确诊符合 Glucksberg 诊断及分级标准^[6],所有患者均为Ⅲ度以上 aGVHD,其中Ⅳ度 aGVHD 患者 19 例。患者在回输 MSCs 前均采用免疫抑制剂治疗,包含甲泼尼龙、芦可替尼、CD25 单抗等,见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准(批号:TJ-IRB20230132),所有受者均知情且签署同意书。

2. MSCs 治疗方法:脐带 MSCs 均来源于齐鲁制药有限公司。MSCs 的治疗剂量为 1×10^6 /kg,每周 2 次^[7]。

3. 临床资料收集:收集患者的一般资料、临床表现、实验室检查,包括性别、年龄、造血干细胞移植合并症指数(hematopoietic cell transplantation-comorbidity index, HCT-CI)评分、美国东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative oncology Group, ECOG)评分、移植物类型、供者特异性抗体(donor specific antibody, DSA)表、人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)类型、血型、血常规等,收集影像学检查(CT、胃肠镜等)、组织病理等检查结果和 aGVHD 治疗

表 1 患者一般资料及单因素分析

临床特征	例数 (百分数)	χ^2 值	P 值
男性	21(70)	2.682	0.101
<50 岁	24(80)	0.335	0.563
DSA			
阴性	26(86.7)		
弱阳性	1(3.3)	2.231	0.328
强阳性	3(10)		
HCT-CI 评分 <2	24(80)	1.391	0.238
ECOG 评分 <2	27(90)	0.137	0.711
移植物类型		0.000	0.985
PB	21(70)		
PB + BM	9(30)		
HLA 半相合	22(73.3)	0.270	0.603
血型相合	15(50)	0.608	0.436
回输次数 ≥ 3	19(63.3)	0.024	0.878
回输前治疗方案		4.866	0.182
甲泼尼龙	2(6.7)		
甲泼尼龙 + 芦可替尼	1(3.3)		
甲泼尼龙 + CD25 单抗	9(30)		
甲泼尼龙 + 芦可替尼 + CD25 单抗	18(60)		

期间合并症[Epstein-Barr 病毒/巨细胞病毒(Epstein-Barr virus/cytomegalovirus, EBV/CMV)再激活、移植相关性血栓性微血管病(transplant-associated thrombotic microangiopathy, TA-TMA)、感染等]及预后等。

4. 疗效判断标准:根据 2020 版专家共识判定 MSCs 疗效^[8]:①完全缓解(complete response, CR),指 aGVHD 临床症状、体征完全消失;②部分缓解(partial response, PR),指所有初始受累器官的 aGVHD 改善(至少降低 1 个级别)但未达到 CR,无其他任何靶器官 aGVHD 恶化;③无效(no response, NR),指 aGVHD 临床症状、体征无明显改善或进行性加重。

5. 统计学分析:采用 SPSS 22.0 和 Graphpad Prism 8.0 统计学软件。通过 Kaplan-Meier 法绘制患者生存曲线。有序变量组间的显著性检验采用多组独立样本的秩和检验,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用配对 t 检验。计数资料用例数(百分数)表示,采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 总体疗效:30 例患者总体客观缓解率(objective response rate, ORR)达 70%,其中有 17 例(56.67%)CR,4 例(13.33%)PR,9 例(30%)NR。

2. MSCs 输注安全性:所有患者在 MSCs 输注期

间及输注后均未出现发热、寒战、胸闷、心悸等不良反应,1 例出现原发病复发。

3. 患者预后:本研究随访截止至 2024 年 4 月,中位随访时间为 165(27,1 398)d。3 年总体生存期(overall survival, OS)为 53.08%(95% CI:32.58%~69.93%),见图 1。死亡患者中有 7 例死于治疗无效的 aGVHD,其中 3 例合并 TA-TMA;有 5 例死于感染,其中有 3 例合并 TA-TMA;1 例死于原发病(AML)复发。

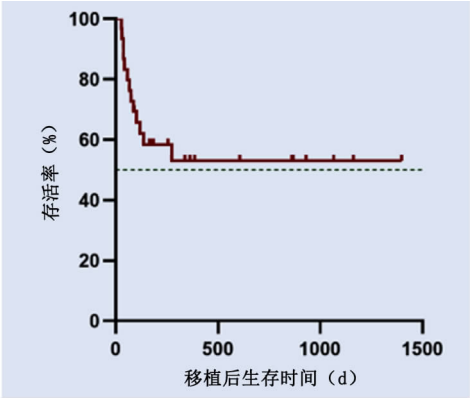


图 1 患者生存曲线

4. 治疗时间点对 MSCs 疗效的影响:发病 2 周内回输 MSCs 的疗效优于 2 周后回输($P<0.05$),见表 2。

表 2 不同回输时间的 2 组患者疗效比较[例(%)]

回输时间	CR	PR	NR
≤14 d	12(40.0)	2(6.7)	2(6.7)
>14 d	5(16.7)*	2(6.7)*	7(23.3)*

注:与 >14 d 比较,* $P=0.022$

5. 患者外周血血象:回输 MSCs 30 d 后白细胞、中性粒细胞及血小板计数减少(P 均 <0.05);回输前后淋巴细胞计数及血红蛋白含量比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05),见图 2。

讨论

尽管 allo-HSCT 在治疗良/恶性疾病方面取得

了重大进展,但 aGVHD 仍然是非复发死亡率的主要驱动因素。几十年来,高剂量泼尼松或甲泼尼龙仍然是 30%~50% aGVHD 患者的一线治疗支柱^[9]。但约一半接受治疗的患者未显示初始应答,仅<30%的患者对激素有持续应答性。针对 SR-aGVHD 患者,使用包括细胞因子/细胞因子受体抗体等二线免疫抑制剂的联合方案虽能取得部分缓解,但移植后广泛的免疫抑制带来的严重感染以及移植物抗白血病效应(graft versus leukemia effect, GVL)减弱导致原发性血液恶性疾病的复发,患者总体生存并未显著改善^[10]。因此暂时没有药物显示出生存优势^[11]。

MSCs 是一种具有自我更新能力的干细胞,能够分化为中胚层组织,如成脂、成软骨和成骨细胞等^[12]。MSCs 可发挥免疫调节和稳态作用,能调节炎症和促进损伤组织的康复。2004 年首次采用单倍体来源的 MSCs 治疗移植后 aGVHD^[13]。骨髓和脂肪来源的 MSCs 存在数量不足或有感染等风险。脐带 MSCs 对供者没有损伤,潜在的病原体污染机会少,具有低免疫原性、增殖能力强、取材不受限制、可大量扩增等优势,是一种极佳的 MSCs 来源^[14]。本研究采用的 MSCs 均源自健康新生儿的脐带组织华通氏胶,在经过体外的分离扩增后与临床级冻存保护液混合制成干细胞制剂。标准化的生产技术有效减少不良反应发生率;MSCs 的获得对捐赠者及新生儿无任何不良影响,无伦理学争议;且脐带中的干/祖细胞更原始,有更强的增殖、分化、分泌及免疫调节能力^[15]。

芦可替尼是治疗 aGVHD 常用二线药物,在一项多中心的二期临床试验中^[4],芦可替尼在 II~IV SR-aGVHD 患者 ORR 达 73.2%,其中 CR 56.3%,1 年 OS 为 42.6%(95% CI:30.0~54.6%)。芦可替尼在 SR-aGVHD 中获得较高的缓解率,但持久的反应较差,可能是由于 Treg 活性受损^[16]。巴利昔单抗是迄今国内最多选用的 aGVHD 二线药物,对成

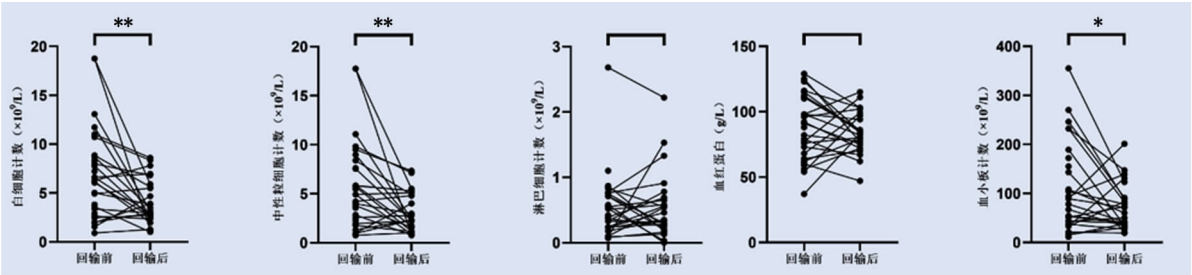


图 2 回输间充质干细胞前后患者血象变化(与回输前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$)

人 SR-aGVHD 患者的 ORR 达 78.7% ~ 86.8%, CR 达 60.9% ~ 69.8%, 其中Ⅲ度以上 aGVHD 的 ORR 为 71.8%^[17]。而其他药物 ORR 在 14% ~ 82%^[18~20]。本研究中, MSCs 的 ORR 接近巴利昔单抗疗法, 而疗效及总体生存优于芦可替尼等其他药物。本研究发现 aGVHD 早期(≤14d)使用 MSCs 疗效更优, 与相关临床研究一致^[21,22]。因此, 可以尝试采用激素联合 MSCs 的方式治疗重度 aGVHD 患者以达到最佳缓解率。

本研究发现回输 MSCs 后患者外周血白细胞及中性粒细胞显著减少, 提示 MSCs 对 aGVHD 状态下炎症细胞数量及功能的调控已达到炎症抑制的作用。而淋巴细胞数量维持相对稳定, 这提示重度 aGVHD 后期, T 淋巴细胞对疾病进展的推进作用逐渐减弱, 可能是先前暴露于类固醇和/或钙调磷酸酶抑制剂的供体 T 细胞在 SR-aGVHD 中的作用没有疾病起始阶段重要^[11,23]。血小板的减少表明重度 aGVHD 对于骨髓造血及巨核细胞功能的严重破坏^[24], 而 MSCs 的疗效或许在早期未能实现完全逆转, 相关现象及病理机制仍需临床及基础实验验证。

综上所述, 脐带 MSCs 对于重度 aGVHD 具有一定疗效, 且输注过程安全, 耐受性好。脐带 MSCs 的最佳输注时机、联合治疗方案及不良事件仍需多中心扩大样本量的深入研究。

参考文献

- 1 Storb R, Gyrkocza B, Storer BE, et al. Graft-versus-host disease and graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. J Clin Oncol, 2013, 31(12):1530-1538.
- 2 Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, et al. Graft-versus-host disease [J]. Lancet, 2009, 373(9674):1550-1561.
- 3 MacMillan ML, Weisdorf DJ, Wagner JE, et al. Response of 443 patients to steroids as primary therapy for acute graft-versus-host disease: comparison of grading systems [J]. Biol Blood Marrow Transplant. 2002, 8(7):387-394.
- 4 Jagasia M, Perales MA, Schroeder MA, et al. Ruxolitinib for the treatment of steroid-refractory acute GVHD (REACH1): a multicenter, open-label phase 2 trial [J]. Blood, 2020, 135(20):1739-1749.
- 5 Gao F, Chiu SM, Motan DA, et al. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects [J]. Cell Death Dis. 2016, 7(1):e2062.
- 6 Schoemans HM, Lee SJ, Ferrara JL, et al. EBMT-NIH-CIBMTR Task Force position statement on standardized terminology & guidance for graft-versus-host disease assessment [J]. Bone Marrow Transplant, 2018, 53(11):1401-1415.
- 7 Bozda ğ SC, Tekgündüz E, Altuntas F. Treatment of acute graft versus host disease with mesenchymal stem cells: Questions and answers [J]. Transfus Apher Sci, 2016, 54(1):71-75.
- 8 中华医学会血液学分会干细胞应用学组, 中国异基因造血干细胞

移植治疗血液系统疾病专家共识(Ⅲ)——急性移植物抗宿主病(2020年版)[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41(7):529-536.

- 9 Jagasia M, Arora M, Flowers ME, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation [J]. Blood. 2012, 119(1):296-307.
- 10 Xhaard A, Rocha V, Bueno B, et al. Steroid-refractory acute GVHD: lack of long-term improved survival using new generation anticytokine treatment [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2012, 18(3):406-413.
- 11 Socié G, Vigouroux S, Yakoub-Agha I, et al. A phase 3 randomized trial comparing inolimomab vs usual care in steroid-resistant acute GVHD [J]. Blood, 2017, 129(5):643-649.
- 12 Hass R, Kasper C, Böhm S, et al. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC [J]. Cell Commun Signal, 2011, 9(1):12.
- 13 Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells [J]. Lancet, 2004, 363(9419):1439-1441.
- 14 冯磊, 曹宁, 梁素丽, 等. 脐带间充质干细胞与脐血造血干细胞临床应用的研究进展[J/OL]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2014, 10(3):387-392.
- 15 Ishige I, Nagamura-Inoue T, Honda MJ, et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from arterial, venous, and Wharton's jelly explants of human umbilical cord [J]. Int J Hematol, 2009, 90(2):261-269.
- 16 Zeiser R, von Bubnoff N, Butler J, et al. Ruxolitinib for Glucocorticoid-Refractory Acute Graft-versus-Host Disease[J]. N Engl J Med, 2020, 382(19):1800-1810.
- 17 Liu SN, Zhang XH, Xu LP, et al. Prognostic factors and long-term follow-up of basiliximab for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: updated experience from a large-scale study [J]. Am J Hematol. 2020, 95(8):927-936.
- 18 Funke VA, de Medeiros CR, Setúbal DC, et al. Therapy for severe refractory acute graft-versus-host disease with basiliximab, a selective interleukin-2 receptor antagonist [J]. Bone Marrow Transplant, 2006, 37(10):961-965.
- 19 Couriel D, Saliba R, Hicks K, et al. Tumor necrosis factor-alpha blockade for the treatment of acute GVHD [J]. Blood. 2004, 104(3):649-654.
- 20 Furlong T, Martin P, Flowers ME, et al. Therapy with mycophenolate mofetil for refractory acute and chronic GVHD [J]. Bone Marrow Transplant. 2009, 44(11):739-748.
- 21 Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, et al. Multiple infusions of mesenchymal stromal cells induce sustained remission in children with steroid-refractory, grade III-IV acute graft-versus-host disease [J]. Br J Haematol, 2013, 163(4):501-509.
- 22 Introna M, Lucchini G, Dander E, et al. Treatment of graft versus host disease with mesenchymal stromal cells: a phase I study on 40 adult and pediatric patients [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2014, 20(3):375-381.
- 23 Toubai T, Magenau J. Immunopathology and biology-based treatment of steroid-refractory graft-versus-host disease [J]. Blood, 2020, 136(4):429-440.
- 24 Medinger M, Tichelli A, Bucher C, et al. GVHD after allogeneic haematopoietic SCT for AML: angiogenesis, vascular endothelial growth factor and VEGF receptor expression in the BM [J]. Bone Marrow Transplant. 2013;48(5):715-721.