

- 80 ℃ 低温保存自体外周血干细胞移植治疗 多发性骨髓瘤的临床研究

蓝 梅， 林金盈， 汤杨明， 李永敢， 李学军， 周瑞莲， 黄新翔， 黄玉葵， 雷 静

基金项目：广西卫计委科研课题(编号:Z2008048)

作者单位：530021 南宁,广西壮族自治区人民医院血液内科
作者简介：蓝 梅(1974 -),女,医学硕士,副主任医师,研究方向:造血干细胞移植。E-mail:meilanmo@sina.com

[摘要] **目的** 探讨 -80 ℃ 低温保存自体外周血干细胞移植 (APBSCT) 治疗多发性骨髓瘤 (MM) 的有效性和安全性。**方法** 对 10 例 MM 患者进行 APBSCT 治疗。采用环磷酰胺 (CTX) + 粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 方案动员干细胞,CS-3000 血细胞分离机采集外周血干细胞并保存于 -80 ℃ 冰箱;用马法兰 200 mg/m² 方案预处理后,解冻回输冻存的干细胞。**结果** (1) 动员后获得单个核细胞数 (MNC) 中位数为 4.54 (2.31 ~ 9.80) × 10⁸/kg;CD34⁺ 细胞数中位数为 4.17 (2.03 ~ 7.76) × 10⁶/kg。(2) 移植后 10 例患者均获得造血重建,中性粒细胞计数 > 0.5 × 10⁹/L、血小板计数 > 20 × 10⁹/L 的中位时间分别是 13.3 (9 ~ 16) d、15 (11 ~ 19) d。(3) 移植后 3 个月完全缓解 (CR) 8 例,非常好的部分缓解 (VGPR) 2 例。中位随访 54.6 (3 ~ 111) 月,生存 8 例 (CR 5 例,VGPR 3 例),其中无进展生存 6 例。复发 4 例中再次治疗维持 CR 2 例,多次复发死亡 2 例。(4) 移植的并发症是感染,无移植相关死亡。**结论** -80 ℃ 低温保存 APBSCT 治疗 MM 安全有效,近期疗效好,移植后需要长期维持治疗。

[关键词] 多发性骨髓瘤; 自体外周血干细胞移植; 疗效

[中图分类号] R 733.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 - 3806 (2016) 07 - 0571 - 04
doi:10.3969/j.issn.1674 - 3806.2016.07.04

A clinical study of autologous peripheral blood stem cell transplantation in multiple myeloma LAN Mei, LIN Jin-ying, TANG Yang-ming, et al. Department of Hematology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To observe the efficacy and safety of autologous peripheral blood stem cell transplantation (APBSCT) in multiple myeloma (MM). **Methods** Ten patients with MM received APBSCT. The peripheral stem cells were mobilized with cyclophosphamide (CTX) plus granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) and were collected with CS-3000 Cell Separator and preserved in a refrigerator at -80 ℃. After the pretreatment of melphalan at 200 mg/m², the peripheral blood stem cells were defrosted and reinfused into the patients. **Results** The median mononuclear cells and CD34⁺ cells were 4.54 (2.31 ~ 9.80) × 10⁸/kg and 4.17 (2.03 ~ 7.76) × 10⁶/kg, respectively. All patients were engrafted. The median time of neutrophil count > 0.5 × 10⁹/L and platelet count > 20 × 10⁹/L were 13.3 (9 ~ 16) days and 15 (11 ~ 19) days, respectively. (3) Eight patients had complete response (CR) and two patients had very good partial response (VGPR) three months after the transplantation. With a median follow-up of 54.6 (3 ~ 111) months, eight patients survived and six patients were progression-free survival (PFS). Four patients relapsed. After active treatment, two patients were CR and two patients died of relapse. Infections were the major complications. There was not transplant-related mortality. **Conclusion** APBSCT with cryopreservation peripheral stem cells at -80 ℃ is safe and effective for MM. The short-term effects are remarkable, but the disease needs a long-term maintenance treatment after the transplantation.

[Key words] Multiple myeloma; Autologous peripheral blood stem cell transplantation; Therapy

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是骨髓内浆细胞克隆性异常增殖的一种血液系统恶性肿瘤。传统化疗完全缓解率 (complete response, CR) 低,自体干细胞移植 (autologous stem cell transplantation,

ASCT)在传统化疗已经成为 65 岁以下初治 MM 患者的标准一线治疗^[1]。ASCT 是一个系统工程,过程包括干细胞的动员、采集、保存、预处理、回输等步骤。干细胞的保存是 ASCT 的一个关键步骤,影响到移植的成功率及疗效。目前保存干细胞常用方法有常温保存(4℃冰箱)和深低温保存(-80℃冰箱或-196℃液氮)。因常温保存干细胞的时间不能超过 72 h,局限性较大。我院 2006-10~2015-12 对 10 例 MM 患者采用-80℃冰箱深低温保存自体外周血干细胞移植(*autologous peripheral blood stem cell transplantation*, APBSCT)治疗,取得较好疗效,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 病例选择 所选病例为 2006-10~2015-12 在我院接受 APBSCT 治疗的患者 10 例,男性 7 例,女性 3 例,中位年龄 49(28~60)岁。诊断及疗效标准参照张之南等^[2]主编《血液病诊断及疗效标准》,轻链型 4 例, IgG 型 4 例, IgA 型 2 例。按照 Durie 和 Salmon 临床分期标准,10 例均为 III 期;肾功能正常者 8 例,肾功能不全者 2 例。移植前诱导化疗方案有长春新碱+阿霉素+地塞米松(VAD)、VAD+沙利度胺(VADT)、硼替佐米+地塞米松(BD)、BDT、硼替佐米+阿霉素+地塞米松(BAD)、BADT、马法兰+泼尼松(MP)、M2、MPT,其中用 VAD 方案 1 例,用 VADT 方案 7 例,经济条件允许用含有硼替佐米的方案 3 例,曾用含 MP 方案 3 例。10 例患者中第 1 例移植患者是 2004 年诊断,当时尚无条件用沙利度胺,未考虑行 ASCT,诱导化疗选用 VAD、M2、MP 方案;余 9 例患者的诱导治疗均使用含有沙利度胺或硼替佐米方案。移植前疾病状态:完全缓解(CR)4 例,非常好的部分缓解(VGPR)6 例。

1.2 治疗方法

1.2.1 干细胞动员 动员方案为环磷酰胺(CTX)+粒细胞集落刺激因子(G-CSF)。其中 CTX 用量为 3.0 g/m²,分 2 d 给予,同时用美斯纳及水化、碱化尿液、止吐等治疗。G-CSF(惠尔血)剂量为 7~8 μg·kg⁻¹·d⁻¹,白细胞计数(WBC)降到最低点开始皮下注射,至采集结束当日停用。

1.2.2 干细胞采集及保存 外周血 WBC 成倍上升或升至 4.0×10⁹/L 左右用血细胞分离机(Baxter Healthcare Corporation 生产,型号 CS-3000 PLUS)采集外周血干细胞。1 次/d,每次循环血量 10~12 L,血流速 30~75 ml/min,连续采集 2~3 次,采集要求单个核细胞数(MNC)≥2.0×10⁸/kg, CD34⁺细胞数≥

2.0×10⁶/kg。采集到的外周血干细胞加入造血干细胞低温保护剂(上海三生生物技术有限公司或南京三生生物技术有限公司生产),分装成 4 袋,放入-80℃冰箱(Thermo Forma -86C ULT Freezer,型号 HXZ0602-08)冻存。

1.2.3 预处理 采用马法兰 200 mg/m²,分 2 d(-4 d, -3 d)服用,同时予预防呕吐、水化、碱化尿液等治疗。

1.2.4 干细胞的解冻和回输 从-80℃冰箱取出干细胞,每袋干细胞在 41℃水浴箱中用 1~2 min 快速解冻复温,解冻后的每袋干细胞经过锁骨下静脉在 5~8 min 内全部回输到患者体内。

1.2.5 干细胞植活标准 植活标准为连续 3 d 外周血中性粒细胞计数(ANC)≥0.5×10⁹/L,血小板计数(PLT)≥20×10⁹/L。

1.2.6 并发症的预防及治疗 患者按干细胞移植常规入住无菌层流病房,常规预防感染、胃肠道反应等并发症。干细胞回输后第 3 天予 G-CSF 5~8 μg·kg⁻¹·d⁻¹以协助造血重建至白细胞植活。血红蛋白(Hb)<70 g/L 予输注红细胞悬液;PLT<20×10⁹/L 予输注机采血小板。出现并发症给予积极治疗。

1.2.7 维持治疗 移植后 1 个月开始维持治疗,根据患者经济条件选择糖皮质激素(泼尼松或地塞米松)、沙利度胺、硼替佐米(经济条件允许)、干扰素,单药或联合治疗。

1.2.8 疗效评价及随访 移植后患者定期复查,随访评估疗效。移植后 1 年内每 2~3 个月随访 1 次;12 个月根据病情每 3~6 个月随访 1 次。MM 复发予诱导化疗及巩固治疗。若病情变化随时检查并治疗。

2 结果

2.1 干细胞的动员和采集结果 动员后 WBC 最低值为 0.2×10⁹/L,皮下注射 G-CSF 天数为 4~6 d,采集到 MNC 中位数为 4.54(2.31~9.80)×10⁸/kg, CD34⁺细胞数的中位数为 4.17(2.03~7.76)×10⁶/kg。

2.2 干细胞的冻存和回输结果 干细胞在-80℃冰箱冻存的中位天数为 56.5(28~169)d。回输存活的 MNC 的中位数为 3.66(2.04~5.76)×10⁸/kg。

2.3 造血功能恢复情况 移植后 10 例患者造血功能均获得重建。ANC≥0.5×10⁹/L 的中位天数为 13.3(9~16)d;PLT≥20×10⁹/L 的中位天数为 15(11~19)d。

2.4 维持治疗情况 9 例用沙利度胺+糖皮质激素(泼尼松或地塞米松)维持,其中 1 例在移植 3 个

月时加用硼替佐米 1 个疗程;1 例移植后 1 年内用干扰素维持,1 年后改用沙利度胺 + 泼尼松维持。1 例因经济困难单用泼尼松维持治疗。

2.5 移植结果

2.5.1 移植后 6 个月内 3 个月时 CR 8 例, VGPR 2 例。1 例移植时间未达 6 个月;9 例中 CR 7 例, VGPR 2 例。

2.5.2 移植后 6~12 个月 2 例移植时间未达到。8 例中持续 CR 6 例, VGPR 1 例, 复发 1 例(在移植后 11 个月复发)。

2.5.3 移植后 13~24 个月 2 例移植时间未达到。8 例中持续 CR 5 例, VGPR 1 例, 复发 2 例(在移植后 22 个月复发 1 例, 2 例复发患者经再次诱导治疗后均 CR)。

2.5.4 移植后 25~48 个月 2 例移植时间未达到。8 例中持续 CR 5 例, VGPR 1 例, PR 1 例(移植后 22 个月复发的患者), 死亡 1 例(第 1 例复发患者移植后 42 个月死于败血症)。

2.5.5 移植后 49~96 个月 2 例移植时间未达到。8 例中持续 CR 3 例, VGPR 1 例, 复发 2 例(复发时间分别为移植后 69 个月、73 个月, 1 例经 VADT 方案, 1 例经 BDT 方案再次诱导治疗, 2 例均再次 CR), 死亡 2 例(第 2 例复发患者移植后 58 个月死于脑出血)。

2.6 随访结果 随访至 2016-03-30, 中位随访时间 54.6(3~111)个月, 生存 8 例(CR 5 例, VGPR 3 例), 无进展生存(progression-free survival, PFS)6 例, 死亡 2 例。

2.7 复发情况 复发 4 例, 2 例为移植 2 年内复发(复发时间分别为 11 和 22 个月), 诱导治疗后获 CR, 但在 1 年内又复发, 1 例复发 4 次, 1 例复发 3 次。这 2 例患者最终多种方案化疗无效, 疾病进展, 1 例于移植后 42 个月感染死亡, 1 例于移植后 58 个月脑出血死亡。2 例为移植 5 年后复发(复发时间分别为 69 和 73 个月), 1 例是因为经济困难, 单用泼尼松维持治疗;1 例用沙利度胺 + 泼尼松维持治疗 67 个月后自行停药, 停药 6 个月 MM 复发。这 2 例患者经再次诱导治疗均达 CR, 之后用“沙利度胺 + 地塞米松”维持治疗, 至今为 CR 状态。

2.8 移植相关并发症

2.8.1 移植后 1 个月内 感染 6 例, 其中急性咽炎 3 例, 口腔黏膜炎 1 例, 急性支气管炎 1 例, 急性肠炎 1 例, 抗炎治疗后治愈。

2.8.2 移植后 1~12 个月 感染 4 例, 其中带状疱疹

疹 2 例, 急性支气管炎 1 例, 肺炎 1 例, 经治疗后均好转。

2.8.3 无移植相关死亡发生。

3 讨论

3.1 2003 年 Child 等^[3]报道了 407 例大样本的 ASCT 治疗 MM 的临床研究, 与标准传统剂量联合化疗相比, 大剂量化疗联合 ASCT 治疗 MM 明显提高 CR 率(44%:8%), 总体生存期(overall survival, OS)和无进展生存(PFS)均显著提高。从此之后, 大剂量化疗联合 ASCT 治疗是年龄 <65 岁 MM 患者的标准一线治疗方案。随着沙利度胺、雷那度胺、硼替佐米等新型靶向药物在 MM 的诱导化疗、联合 ASCT 巩固及维持治疗等方面的应用, MM 的治疗效果进一步提高。Rosinól 等^[4]研究发现, MM 移植前用硼替佐米 + 沙利度胺 + 地塞米松(VTD)方案诱导治疗 CR 率达到 35%, ASCT 后 CR 率达 46%。意大利的 III 期临床研究^[5]显示, ASCT 前用 VTD 诱导化疗 CR 率为 31%, 移植后用 VAD 巩固治疗 2 周期, 之后用地塞米松维持治疗, 达到 VGCR 以上疗效为 89%。本研究的 10 例患者, 在诱导化疗和 ASCT 后维持治疗中有 9 例使用含有沙利度胺的方案, 3 例使用含有硼替佐米的方案, 1 例因经济条件有限未能使用含沙利度胺等方案。10 例患者移植后 3 个月内疗效均达到 CR 或 VGPR, 提示移植后近期疗效好。移植后中位随访 54.6(3~111)月, 8 例生存, 6 例无进展生存。本方案疗效较好, 除了与大剂量化疗 + ASCT 外, 新药的应用也是提高疗效的一个重要因素。

3.2 MM 单纯行 ASCT 治疗, 多数患者迟早会复发或进展。研究表明 ASCT 后巩固和维持治疗可以延长缓解持续时间, 最终提高 PFS 和 OS^[6]。Maiolino 等^[7]报道 ASCT 后使用地塞米松 + 沙利度胺维持治疗比单纯用地塞米松(Dex)维持治疗获得更高的 PFS(2 年 PFS:地塞米松 + 沙利度胺为 64%;地塞米松为 30%)。本研究中 10 例患者有 9 例用沙利度胺联合糖皮质激素(泼尼松或地塞米松)维持治疗, 延长了疾病缓解时间, 降低了复发率, 中位随访 54.6 个月, 8 例患者存活, 其中 6 例无进展生存。本研究中 5 年后复发的 2 例患者考虑与维持治疗强度不足或中断相关, 其中 1 例因为经济困难单独用泼尼松维持, 维持强度不足可能导致疾病复发, 另 1 例患者自行停用沙利度胺 + 激素, 维持治疗中断导致疾病复发。另外 2 例复发患者按治疗规范维持治疗仍 2 年内复发, 考虑与疾病危险度相关, 也可能是患者对

沙利度胺存在耐药因素。

3.3 ASCT 过程复杂,出现移植相关并发症的概率高,尤其在骨髓衰竭期容易出现各种各样的感染,存在移植相关死亡率。本研究的主要并发症是感染,在移植后 1 个月内出现感染 6 例,移植后 1~12 个月出现感染 4 例,经积极抗感染治疗均治愈。2 例患者死亡与 MM 疾病进展有关,MM 多次复发,治疗效果差,1 例患者移植后 42 个月死于败血症,另 1 例患者移植后 58 个月死于脑出血。本研究中无移植相关死亡。

3.4 干细胞的保存是 ASCT 过程的一个重要环节。4℃ 冰箱常温保存干细胞只需要普通冰箱,不用加细胞保护剂,操作简单,细胞不经过冷冻损伤。但常温保存干细胞有局限性:(1)存放干细胞的时间短,不能超过 3 d,采集干细胞后需要立即进行预处理,预处理时间短,预处理药物剂量不足,原发病易复发。(2)若干细胞动员患者出现并发症,没有足够时间从容处理;如果有严重并发症,甚至要放弃移植。-80℃ 冰箱深低温保存的优点:(1)可以长时间冻存干细胞。(2)干细胞动员或采集过程中如果出现并发症,有时间从容处理。(3)采集干细胞后可待患者血象及免疫功能恢复后再进行预处理,出现感染等并发症少。(4)预处理时间充分,免疫抑制剂剂量足,原发病不易复发等。本研究是采用 -80℃ 冰箱深低温保存干细胞,冻存干细胞的中位天数为 56.5(28~169)d,根据患者病情择期行移植治疗。10 例患者移植后造血功能均获得重建,提示 -80℃ 冰箱深低

温保存 APBST 是安全可行的。

总之,我们的研究显示 -80℃ 冰箱保存干细胞的 APBST 治疗 MM 安全有效,近期疗效好,移植后需要长期维持治疗。

参考文献

- 1 侯 健,樊建玲. 新药时代自体造血干细胞移植在 多发性骨髓瘤中的应用前景[J]. 中国肿瘤临床,2015,42(1):8-12.
- 2 张之南,沈 悌,主编. 血液病诊断及疗效标准[M]. 第 3 版. 北京:科学出版社,2007:232-235.
- 3 Child JA, Morgan GJ, Davies FE, et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma[J]. N Engl J Med,2003,348(19):1875-1883.
- 4 Rosiñol L, Oriol A, Teruel AI, et al. Superiority of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone (VTD) as induction pretransplantation therapy in multiple myeloma; a randomized phase 3 PETHEMA/GEM study[J]. Blood,2012,120(8):1589-1596.
- 5 Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, et al. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma; a randomised phase 3 study[J]. Lancet, 2010,376(9758):2075-2085.
- 6 Mohty M, Harousseau JL. Treatment of autologous stem cell transplant-eligible multiple myeloma patients: ten questions and answers[J]. Haematologica, 2014,99(3):408-416.
- 7 Maiolino A, Hungria VT, Garnica M, et al. Thalidomide plus dexamethasone as a maintenance therapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation improves progression-free survival in multiple myeloma[J]. Am J Hematol, 2012,87(10):948-952.

[收稿日期 2016-04-01][本文编辑 吕文娟]

《中国临床新医学》杂志征集广告启事

《中国临床新医学》杂志是经国家新闻出版广电总局批准出版、由国家卫生和计划生育委员会主管、由中国医师协会和广西壮族自治区人民医院共同主办的国家级医学学术性科技期刊(国内统一连续出版物号为 CN45—1365/R, 国际标准刊号为 ISSN1674—3806, 邮发代号为 48—173, 月刊, 国内外公开发行)。办刊宗旨:报道国内外医学科学的最新研究成果, 传播医学科学的最新理论和信息, 交流医学科学的最新经验, 介绍医学科学的最新技术。主要读者对象为广大的医疗卫生业务技术人员和医院管理工作。

本刊征集承接各种、各类宣传广告, 包括医疗机构介绍, 医药卫生产品、药品、医疗器械、医疗耗材、保健食(药)品及保健酒(茶)类等。热情欢迎广大医疗机构、厂家、商家、销售代表和代理商来人、来电、来函联系商谈广告业务; 欢迎有关公司(个人)承包代理广告业务; 欢迎广大医务人员协助推介联系广告业务。本刊将按照广告费用情况, 实行多种、多方式的优惠、提成、酬劳、佣金、奖励等制度。

本刊地址:广西南宁市桃源路 6 号广西壮族自治区人民医院内, 邮编:530021, 联系电话:0771-2186013, E-mail: zglcxyxzz@163.com。

广告刊发需刊登广告方提供以下相关材料:医疗机构需要提供加盖单位公章的营业执照复印件、广告审批文件复印件; 医药卫生产品、药品、医疗器械、医疗耗材、保健食(药)品、保健酒(茶)类等, 需提供加盖公司公章的“广告委托书、生产许可证、产品合格证、销售许可证、广告审批文件”等相关证明材料的复印件。

• 本刊编辑部 •