

[文章编号] 1007-385X(2008)02-0189-04

非清髓性异基因造血干细胞移植在实体瘤治疗中的应用

Application of non-myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for solid tumor therapy

李 花 综述;任秀宝* 审阅(天津医科大学附属肿瘤医院免疫室,天津 300060)

[摘要] 异基因干细胞移植用于实体瘤的治疗有很大的潜力。传统的清髓性造血干细胞移植采用大剂量化疗药物对受者进行预处理,虽然起到一定的杀伤肿瘤细胞作用,但增加了移植相关死亡率(transplant-related mortality, TRM)。随着对非清髓性预处理的深入研究,人们将非清髓性造血干细胞移植用于实体瘤的治疗。与清髓性干细胞移植比较,非清髓性移植减轻了TRM,且拓宽了移植适应证。移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)是异基因移植后出现的毒性反应,甚至成为致命性的并发症。移植物抗肿瘤(graft versus tumor, GVT)效应是异基因移植治疗实体瘤的关键,而GVT效应常伴随GVHD的出现。因此,如何在保留GVT效应的同时降低GVHD是我们所面临挑战。目前,通过改变预处理方案、加强对移植物的处理、改变免疫抑制疗法等3种策略使用于GVHD的防治,取得了一定效果,为异基因造血干细胞移植治疗实体瘤带来了广阔前景。

[关键词] 异基因造血干细胞移植;非清髓性;移植物抗肿瘤效应;移植物抗宿主病

[中图分类号] R730.54;R457.7 [文献标志码] A

异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, Allo-HSCT)在恶性血液疾病治疗中取得了很多成果,近些年来,人们愈来愈重视其在实体瘤治疗中的应用。随着研究的不断深入,低剂量、低毒性的非清髓性干细胞移植(non-myeloablative stem cell transplantation, NSCT),因拓宽了移植适应证,且降低了移植相关死亡率(transplant-related mortality, TRM),具有很好的应用前景^[1]。其中免疫系统介导的移植物抗肿瘤(graft versus tumor, GVT)效应在NSCT治疗中起了关键性作用。另外由于供者造血干细胞的植入,在受者体内形成一种混合嵌和状态,为后续的供者淋巴细胞输注(donor lymphocyte infusion, DLI)设置了平台^[2]。然而怎样防治GVHD仍是我们所面临的挑战。本文就近几年NSCT在实体瘤中的应用进展及GVHD的防治方法作一综述。

1 Allo-HSCT 用于实体瘤治疗

早在20世纪90年代,人们就开始将造血干细胞移植用于乳腺癌和其他实体瘤的治疗,当时98%属于自体造血干细胞移植(autogeneic hematopoietic stem cell transplantation, Auto-HSCT),只有2%为Allo-HSCT。近年来,人们发现异基因免疫细胞可对肿瘤细胞产生免疫应答,即GVT效应,与Auto-HSCT比较,异基因移植因不存在回输干细胞带有肿瘤细胞而致复发问题,只有较低的复发率。在过去的10年里,随着对NSCT研究的深入,人们着手将此方法用于实体瘤的治疗。

1.1 NSCT

非清髓性预处理主要采用低剂量、低毒性的化疗药物和免疫抑制剂,或采用低剂量的全身照射(total

body irradiation, TBI)等毒性反应相对较弱的方案,与传统的基于大剂量放、化疗的清髓性预处理相比,对人体的损伤明显减轻,因此非清髓性移植,扩大了患者的年龄限制,拓宽了移植适应证,且降低了TRM。清髓性移植中预处理目的是杀伤受者体内肿瘤细胞,而非清髓性移植是基于一种免疫治疗,其目的主要是诱导供受者形成双向耐受,使供者细胞容易植入扩增,增殖的免疫细胞对受者体内的肿瘤细胞进行攻击,产生GVT效应;另一方面供者细胞植入后,在受者体内形成一种混合嵌和状态,后续的GLI加大了GVT效应,可以促使此混合嵌和状态转变成完全嵌和状态。Dey等^[3]研究发现,非清髓性移植后只有当供者混合嵌和状态达到40%或更高时,这种混合嵌和状态才能转变成完全嵌和状态。

1.2 NSCT 用于转移性肾癌的治疗

肾癌对放、化疗不敏感,晚期肾癌患者中位生存期不到1年。以IL-2和干扰素- α 为基础的细胞因子治疗对转移性肾癌患者有一定的疗效,但总的应答率不到20%^[4]。基于肾癌对免疫治疗的敏感性,Childs's等^[5]将19位转移性肾癌患者经氟达拉滨(fludarabine)加环磷酰胺预处理后,予HLA相匹配或存在一个位点不匹配的同胞之间移植,移植后给予环孢霉素A预防GVHD,随访观察显示,9例患者移植后存活时间287~

[基金项目] 天津市重大科技资助项目(No. 043115211-3)。Supported by the Key Science Program of Tianjin (No. 043115211-3)

[作者简介] 李 花(1980-),女,山东省滨州市人,硕士,主要从事肿瘤生物治疗方面的研究

* Corresponding author: Email:rwziyi@yahoo.com.cn

831 d(中位存活期为402 d),2例患者死于移植相关因素,其他8例死于疾病进展;10例患者转移病灶消失(3例转移灶完全消失,7例部分消失),反应率为53%。移植后30 d影像学评价,18例患者病情稳定或进展,1例患者在21 d转移灶消失,并伴随急性GVHD的发生,大部分患者在停用环孢素A或予GLI输注后,转移灶消失,还有1例患者移植后对干扰素- α 治疗有反应。Rini等^[6]采用与Childs's同样的预处理方法治疗的12例肾癌患者,4例出现部分反应,应答率为33%,GVT效应出现在移植后6个月且供者完全嵌合状态下。上述资料证实了GVT效应的存在以及NSCT治疗肾癌的可行性,由于GVT效应出现较慢,此治疗比较适合肿瘤负荷较小,疾病进展慢的患者。

1.3 NSCT用于其他实体瘤的治疗

NSCT用于乳腺癌患者亦取得了可喜的成果。Bregni等^[7]治疗6例转移性乳腺癌患者,用塞替派、环磷酰胺和氟达拉滨作为预处理方案,移植后其中2例患者经DLI后达部分缓解,其他患者达稳定,还有1例患者在经过Ⅱ度急性GVHD后骨髓转移性瘤细胞变为阴性;另外,Bishop等^[8]将氟达拉滨和环磷酰胺作预处理治疗了16例转移性乳腺癌患者,其中8例患者达到缓解,中位生存期及无疾病进展期分别为11个月和3个月。

NSCT用于恶性黑色素瘤患者,尽管有少数患者出现GVT效应,初步结果还是令人失望。Childs等^[9]治疗了25例转移性恶性黑色素瘤患者,中位生存时间不到100 d,只有5例患者出现短暂的肿瘤消退,但因发生于治疗早期,考虑为化疗反应,而不是GVT效应。因此研究认为,NSCT应限制于进展慢的少数恶性黑色素瘤患者。近来有少数报道NSCT用于卵巢癌^[10]及结直肠癌^[11]的治疗,因此类肿瘤对化疗敏感,很难将治疗作用归于GVT效应。也有零星报道NSCT用于肺癌^[12]、前列腺癌^[13]以及某些肉瘤^[14]的治疗。

尽管非清髓性移植较传统的基于大剂量放、化疗的清髓性移植毒性减低,且在实体瘤治疗(如肾癌、乳腺癌)中取得一定的成果,但TRM仍在10%~20%,在一般状况较差的患者会更高^[15]。因移植后到GVT效应发生需要一段时间,因此目前进行的非清髓性治疗,主要选择低肿瘤负荷的早期转移患者。移植前,可以对患者进行大剂量化疗或外科手术治疗来减轻肿瘤负荷。另外,非清髓移植要求HLA相匹配同胞作为干细胞供者,而调查显示只有25%的患者具有HLA相匹配同胞,限制了此方法的应用。因此,研究者正在进行HLA不相关供者的临床试验,若成功,有望扩展异基因干细胞移植在实体瘤治疗中的应用。

2 GVT和GVHD

在异基因移植中,当供者淋巴细胞攻击受者体内健康组织时,就会发生GVHD;而当供者淋巴细胞识别受者体内肿瘤细胞并对其杀伤时,此即GVT效应。因此,GVT效应常伴随GVHD出现。以下几点可以证实GVT效应的存在:(1)在造血干细胞移植中,经历急慢性GVHD的患者较没有合并此并发症的患者复发率较低;(2)采用同样的处理方法,异基因移植抗肿瘤疗效明显优于自体移植;(3)去T细胞移植后产生的GVT效应减弱;(4)移植后复发者接受GLI后可再次得到缓解。在这一领域,对研究者的最大挑战将是如何促使供者免疫系统只识别肿瘤细胞,而对受者正常细胞没有损伤^[16],即在不发生或减小GVHD的同时如何加大GVT效应。GVHD与GVT同样被供者T细胞调节,包含以下几个阶段,第一,预处理阶段,在此阶段会出现广泛细胞减少(特别在传统的清髓性的骨髓移植中),能够导致炎症细胞因子的释放,这些因子能够影响受者APCs和激发供者T细胞反应;第二,诱导阶段,即传统的T细胞识别阶段;第三,供者T细胞扩增阶段,在此阶段,异源性T细胞扩增并定居于靶器官,此过程被一些趋化因子、整联蛋白和黏附分子所控制;第四,其他细胞扩增阶段,包括NK细胞,单核细胞及中性粒细胞,移至靶器官,进一步加重GVHD;最后,效应阶段,一些免疫效应分子(如IFN- γ ,TNF,FASL及一些继发致炎因子)被认为能导致受者组织损伤。观察发现,GVT效应更多发生于有GVHD病史的患者,提示了次要组织相容性抗原广泛分布于正常组织和肿瘤细胞上面,靶抗原的分布最终决定GVT效应是否伴有GVHD^[17]。实际上,能够溶解肾癌细胞的次要组织相容性抗原特异T细胞克隆在体外已被分离出来^[18],有望用于NSCT中,扩大GVT效应的同时减弱GVHD。

3 如何防治GVHD

在异基因造血干细胞移植中,GVHD主要是由T细胞介导,发生于T细胞被抗原提呈细胞刺激后,并在促炎因子(如IL-1、IL-6、IL-8及TNF- α)作用下得到增强^[19]。慢性GVHD是异基因移植中最常见的并发症,其发生的危险因素有既往的急性GVHD、HLA不匹配、患者年龄较大,GLI以及潜在的病毒感染等。为避免发生GVHD而同时保留GVT效应,人们着手从移植的几个步骤中寻找策略,包括:改变预处理方案、加强对移植物的处理以及改变免疫抑制疗法。

考虑到致GVHD的危险因素,去T细胞策略在移植中正被人们使用,包括自杀基因系统的应用^[20],选择性地去除CD8⁺T细胞^[21]。后一种方法是基于观察

发现 CD8⁺T 及 CD4⁺T 细胞都可引发 GVHD,但在没有 CD8⁺T 细胞时 CD4⁺T 细胞仍能提供 GVT 效应^[22],或在高危人群为预防 GVHD,选择性去除 CD4⁺T 细胞,同时减少 CD8⁺T 细胞^[23]。这些方法虽然可以减少 GVHD 的发生,但同时也降低了 GVT 效应。

尽管供者来源的 CD8⁺T 细胞在移植物抗肿瘤效应中可能起主要作用,但不能就此排除其他供者细胞的作用,如 CD4⁺T 细胞、B 细胞、NK 细胞;一些异基因 NK 细胞亚群较自体 NK 细胞更能增强抗肾肿瘤细胞毒性^[24]。对异源性 NK 细胞的研究,给人们带来了希望,这些细胞在没有诱导 GVHD 发生时,可以调节 GVT 效应^[25]。与 CTLs 不同,NK 细胞通过释放穿孔素及颗粒酶发挥杀伤作用,不受 MHC-I 类分子限制,它的活性决定于细胞表面的抑制性受体 KIR 和活化性受体。KIR 属于免疫球蛋白样超家族中的成员,当其与 MHC-I 类分子结合后,使 NK 细胞识别“自己”与“非己”,从而保护“自己”和杀伤“非己”来维持体内平衡。在给予大剂量 HLA 不相合的 NK 细胞输注的鼠移植模型中,证实 NK 细胞与 T 细胞比较不能起始 GVHD^[26]。然而, NK 细胞通过被炎症诱发的 NKG2D 受体上调间接激活时,可以导致靶器官损伤。Anderson 等^[27]证实,供者 NK 细胞能够攻击受者的树突状细胞,对抑制 GVHD 的发生起了重要作用。Hubbard 等^[28]发现,供者 T 细胞中可诱导辅助刺激因子(Inducible costimulator, ICOS)的缺失,能够减轻 GVHD,但同时因引起 TH2 的偏移,从而降低 GVT 效应。

近来对 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)的研究证实,在动物模型中,Treg 能够保留 GVT 效应的同时抑制 GVHD,Treg 的这种调节能力是基于 GVHD 的发生需要 T 细胞的增殖,而 GVT 效应需要的是 T 细胞活化的假设^[29],因此可以通过调节 Treg 来降低 GVHD 的发生。许多研究证实在混合淋巴细胞反应中,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)亦能抑制 T 淋巴细胞的增殖,从而提高移植率和抑制 T 细胞的同种异体反应性,有望在临床中发挥其治疗潜力^[30-31]。

白介素,如 IL-2、IL-11,都被证明能够在抑制 GVHD 的同时,保留或加强 GVT 效应^[32]。近来研究指出,患者体内具有较高的抗炎因子 IL-10 产物时可以预防 GVHD 发生,而血清内具有较高水平 TNF- α 的患者较易出现 GVHD,这些发现可以帮助我们去寻找更合适的供者,从而降低 GVHD 的发生。鉴于急性 GVHD 的病理生理机制,人们还将一些抗细胞因子抗体用于 GVHD 的防治;母胎微嵌合是胎儿的造血干细胞在母体内长期存在的状态,有利于携带父系 HLA 信息的子代细胞不被母体排斥,促进移植耐受的形成和防止严

重 GVHD 的发生。Van Rood 等^[33]证实在非去 T 细胞移植中,母体移植较父体移植时慢性 GVHD 的发生率更低。

异基因造血干细胞移植用于实体瘤的治疗,尤其是肾细胞癌、乳腺癌等,其疗效已被证实,具有很好的应用前景。随着对 GVT 效应和非清髓性预处理的研究,基于免疫治疗的 NSCT,因其存在的许多优势,愈来愈被人们重视,但仍难以避免出现 GVHD 和移植相关死亡。因此,如何充分发挥 GVT 效应而又避免或降低 GVHD 仍是我们面临的挑战。对于 GVHD 免疫发生机制以及 GVHD 与 GVT 之间关系的研究,促使人们采用新的治疗方法,提高 GVT 效应的同时降低 GVHD 的发生;对异源性 NK 细胞的研究,对 Treg 细胞、ICOS、MSCs 以及母胎微嵌合的初步研究等,都给异基因造血干细胞移植治疗实体瘤带来了希望。

[参考文献]

- [1] Banna GL, Aversa S, Sileri VC, *et al.* Nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation (NST) after truly nonmyeloablative and reduced intensity conditioning regimens[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2004, 51(3): 171-189.
- [2] Yun T, Lee KW, Song EG, *et al.* Non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation for metastatic renal cell carcinoma[J]. *Clin Transplant*, 2007, 21(3): 337-343.
- [3] Dey BR, McAfee S, Colby C, *et al.* Impact of prophylactic donor leukocyte infusions on mixed chimerism, graft-versus-host disease, and antitumor response in patients with advanced hematologic malignancies treated with nonmyeloablative conditioning and allogeneic bone marrow transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2003, 9(5):320-329.
- [4] Vuky J, Motzer RJ. Cytokine therapy in renal cell cancer[J]. *Urol Oncol*, 2000, 5(6): 249-257.
- [5] Childs R, Chernoff A, Contentin N, *et al.* Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood-stem-cell transplantation[J]. *N Engl J Med*, 2000, 343(11): 750-758.
- [6] Rini BI, Zimmerman T, Stadler WM, *et al.* Allogeneic stem-cell transplantation of renal cell cancer after nonmyeloablative chemotherapy: feasibility, engraftment, and clinical results[J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(8):2017-2024.
- [7] Bregni M, Doderio A, Peccatori J, *et al.* Nonmyeloablative conditioning followed by hematopoietic cell allografting and donor lymphocyte infusions for patients with metastatic renal and breast cancer[J]. *Blood*, 2002, 99(11):4234-4236.
- [8] Bishop MR. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for metastatic breast cancer[J]. *Clin Breast Cancer*, 2003, 4(1): 39-45.
- [9] Childs RW. Nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation as immunotherapy for malignant diseases[J]. *Cancer J*, 2000, 6(3):179-187.
- [10] Bay JO, Fleury J, Choufi B, *et al.* Allogeneic hematopoietic stem

- cell transplantation in ovarian carcinoma: results of five patients [J]. Bone Marrow Transplant, 2002, 30(2): 95-102.
- [11] Carnevale-Schianca F, Cignetti A, Capaldi A, *et al.* Allogeneic nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation in metastatic colon cancer: tumor-specific T cells directed to a tumor-associated antigen are generated *in vivo* during GVHD[J]. Blood, 2006, 107(9): 3795-3803.
- [12] Imataki O, Makimoto A, Kojima R, *et al.* Intensive multimodality therapy including paclitaxel and reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of adrenal cancer with multiple metastases[J]. Int J Clin Oncol, 2006, 11(2): 156-158.
- [13] Bregni M, Ueno NT, Childs R. The second international meeting on allogeneic transplantation in solid tumors[J]. Bone Marrow Transplant, 2006, 38(8): 527-537.
- [14] Secondino S, Carrabba MG, Pedrazzoli P, *et al.* Reduced intensity stem cell transplantation for advanced soft tissue sarcomas in adults: a retrospective analysis of the European Group for Blood and Marrow Transplantation[J]. Haematologica, 2007, 92(3): 418-420.
- [15] Renga M, Pedrazzoli P, Siena S. Present results and perspectives of allogeneic non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation for treatment of human solid tumors[J]. Ann Oncol, 2003, 14(8): 1177-1184.
- [16] Lee SP, Chan AT, Cheung ST, *et al.* CTL control of EBV in nasopharyngeal carcinoma (NPC); EBV-specific CTL responses in the blood and tumors of NPC patients and the antigen-processing function of the tumor cells[J]. J Immunol, 2000, 165(1): 573-582.
- [17] Mori S, El-Baki H, Mullen CA. Analysis of immunodominance among minor histocompatibility antigens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2003, 31(10): 865-875.
- [18] Warren EH, Tykodi SS, Murata M, *et al.* T-cell therapy targeting minor histocompatibility antigens for the treatment of leukemia and renal cell carcinoma[J]. Cytotherapy, 2002, 4(5): 441.
- [19] Ferrara JL, Cooke KR, Teshima T. The pathophysiology of acute graft-versus-host disease[J]. Int J Hematol, 2003, 78(3): 181-187.
- [20] Zeiser R, Marks R, Bertz H, *et al.* Immunopathogenesis of acute graft-versus-host disease: implications for novel preventive and therapeutic strategies[J]. Ann Hematol, 2004, 83(9): 551-565.
- [21] Meyer RG, Britten CM, Wehler D, *et al.* Prophylactic transfer of CD8-depleted donor lymphocytes after T-cell-depleted reduced-intensity transplantation [J]. Blood, 2007, 109(1): 374-382.
- [22] Champlin R, Khouri I, Anderlini P, *et al.* Nonmyeloablative preparative regimens for allogeneic hematopoietic transplantation[J]. Oncology (Williston Park), 2003, 17(1): 94-100.
- [23] Smetak M, Kimmel B, Birkmann J, *et al.* Clinical-scale single-step CD4⁺ and CD8⁺ cell depletion for donor innate lymphocyte infusion (DILI) [J]. Bone Marrow Transplant, 2007 Nov 26 [Epub ahead of print].
- [24] Meller B, Frohn C, Brand JM, *et al.* Monitoring of a new approach of immunotherapy with allogeneic (111)In-labelled NK cells in patients with renal cell carcinoma[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004, 31(3): 403-407.
- [25] Ruggeri L, Aversa F, Martelli MF, *et al.* Allogeneic hematopoietic transplantation and natural killer cell recognition of missing self [J]. Immunol Rev, 2006, 214: 202-218.
- [26] Ruggeri L, Capanni M, Mancusi A, *et al.* The impact of donor natural killer cell alloreactivity on allogeneic hematopoietic transplantation [J]. Transpl Immunol, 2005, 14(3-4): 203-206.
- [27] Anderson BE, McNiff JM, Jain D, *et al.* Distinct roles for donor- and host-derived antigen-presenting cells and costimulatory molecules in murine chronic graft-versus-host disease: requirements depend on target organ[J]. Blood, 2005, 105(5): 2227-2234.
- [28] Hubbard VM, Eng JM, Ramirez-Montagut T, *et al.* Absence of inducible costimulator on alloreactive T cells reduces graft versus host disease and induces Th2 deviation [J]. Blood, 2005, 106(9): 3285-3292.
- [29] Schneider M, Munder M, Karakhanova S, *et al.* The initial phase of graft-versus-host disease is associated with a decrease of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in the peripheral blood of patients after allogeneic stem cell transplantation[J]. Clin Lab Haematol, 2006, 28(6): 382-390.
- [30] Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, *et al.* Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex [J]. Scand J Immunol, 2003, 57(1): 11-20.
- [31] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, *et al.* Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation *in vitro* and prolong skin graft survival *in vivo*[J]. Exp Hematol, 2002, 30(1): 42-48.
- [32] 居小萍, 王健民. 细胞因子在急性移植抗宿主病中的作用 [J]. 中国实验血液学杂志, 2000, 8(4): 312-316.
- [33] van Rood JJ, Loberiza FR, Zhang MJ, *et al.* Effect of tolerance to noninherited maternal antigens on the occurrence of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation from a parent or an HLA-haploidentical sibling[J]. Blood, 2002, 99(5): 1572-1527.

[收稿日期] 2007 - 10 - 11

[修回日期] 2008 - 12 - 15

[本文编辑] 郁晓路

欢迎登陆《中国肿瘤生物治疗杂志》网站 www.biother.org