

综述

促进脐血造血干/祖细胞植入策略的研究进展

宁柳心, 郝思国

上海交通大学医学院附属新华医院血液科, 上海 200092

[摘要] 脐血移植(cord blood transplantation, CBT)已广泛地应用于儿童及成人恶性及非恶性血液病的治疗。与其他来源的造血干/祖细胞移植相比,行CBT后造血系统及免疫系统重建较缓慢且存在一定的植入失败率,从而增加了患者感染等导致的移植相关死亡率。因此,如何促进脐血造血干/祖细胞的植入是CBT多年来研究的热点。该文就近年来在促进脐血造血干/祖细胞植入策略的研究进展方面作一综述。

[关键词] 脐血移植;造血干/祖细胞;体外扩增;植入;归巢

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.03.018 **[中图分类号]** R457.1 **[文献标志码]** A

Progress in researches on improving engraftment of hematopoietic stem/progenitor cells of cord blood

NING Liu-xin, HAO Si-guo

Department of Hematology, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China

[Abstract] Cord blood transplantation (CBT) has been widely used in the treatment of hematologic malignancies and non-malignant hematologic diseases both in children and adults. Compared with other sources of hematopoietic stem/progenitor cell (HSPC) transplantation, CBT has a higher rate of engraftment failure and delayed hematopoietic system and immune system recovery, thereby increasing the mortality caused by infection and other transplant-related complications. Therefore, how to promote the engraftment of cord blood HSPC has been a hot spot in CBT for many years. The article reviews the latest advances in the strategies to improve the engraftment of HSPC of cord blood.

[Key words] cord blood transplantation (CBT); hematopoietic stem/progenitor cell (HSPC); *in vitro* expansion; engraftment; homing

1988年,一位患范科尼贫血(Fanconi anemia)的5岁患儿首次应用人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)相合同胞脐血移植获得成功,患者获得长期的无病生存^[1],由此拉开了脐血移植(cord blood transplantation, CBT)临床应用的序幕。此后非血缘的CBT不仅在非恶性血液病患者中被应用,而且在恶性血液病患者中也取得了令人满意的效果。近数十年来, CBT在全球获得推广应用。

CBT不仅来源丰富、采集方便,同时具有病毒污染概率小、供体无风险、可快速获得、能满足急需移植患者的需求等优点。另外,移植后移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)特别是慢性GVHD(chronic GVHD, cGVHD)的发生率低且程度轻。然而,虽然CBT的GVHD程度较轻,但其诱导的移植物抗白血病(graft-versus-leukemia, GVL)效应并不减弱。近年的研究^[2]显示,急性白血病患者接受CBT后复发率显著低于

非血缘外周血干细胞移植(peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT)。动物模型研究^[3]显示,脐血中的T细胞较外周血T细胞具有更强的抗肿瘤效应。在动物模型中,外周血T细胞所诱导抗肿瘤效应与异种反应性(xenoreactivity)相关,而脐血T细胞的抗肿瘤效应则是由同种异体反应性(alloreactivity)所诱导。在脐血T细胞处理的动物模型中,肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TILs)主要为CD8⁺T细胞,是抗肿瘤的主要效应细胞,CD8⁺TILs分泌的细胞因子主要为肿瘤坏死因子- α 和穿孔素,CD4⁺TILs主要为辅助性T细胞1;而外周血T细胞处理的动物模型中,TILs中CD8⁺T细胞的比例明显降低,CD8⁺TILs分泌的肿瘤坏死因子- α 和穿孔素显著减少,CD4⁺TILs主要为辅助性T细胞2。这些研究结果提示脐血T细胞抗肿瘤效应显著强于外周血T细胞。但是,由于单份脐血中造血干/祖细胞(hematopoietic stem/progenitor cell, HSPC)数目较少,

[基金项目] 上海申康医院发展中心市级医院临床技能与临床创新三年行动计划项目(16CR1033B)。

[作者简介] 宁柳心(1994—),女,硕士生;电子信箱:nlx2108@163.com。

[通信作者] 郝思国,电子信箱:haosiguo@xinhumed.com.cn。

[Funding Information] Three-year Action Plan for Clinical Skills and Clinical Innovation in Municipal Hospitals of Shanghai Shengkang Hospital Development Center (16CR1033B).

[Corresponding Author] HAO Si-guo, E-mail: haosiguo@xinhumed.com.cn.



单份脐血所含的有核细胞 (total nucleated cell, TNC) 数仅为骨髓移植 (bone marrow transplantation, BMT) 或 PBSCT 的 1/20~1/10, 导致行 CBT 后造血系统和免疫系统重建较 BMT 或 PBSCT 明显延迟, 发生植入失败、感染及移植相关并发症的风险较大^[4]。因此, 如何弥补脐血这些不足是提高 CBT 治疗效果的关键, 目前的策略主要有以下 4 个方面。

1 双份脐血移植

为了提高脐血的 TNC 数量, 20 世纪 90 年代明尼苏达大学研究小组首先尝试了双份脐血移植 (double CBT, DCBT) 研究^[5], 结果显示 6 个月的移植相关死亡率 (transplantation related mortality, TRM) 为 22%, 1 年的无病生存 (disease free survival, DFS) 率为 57%, 证明了 DCBT 的可行性和安全性。但所有 DCBT 中只有 1 份脐血植活, 这份植入的脐血称为优势植入脐血。同时该研究结果提示, 接受 DCBT 的患者表现出快速造血恢复。此外, 该研究组于 2009 年首次发表了单份脐血移植 (single CBT, SCBT) 和 DCBT 比较的单中心研究^[6] 结果: 2 组患者中性粒细胞和血小板植入时间相似, 植入率也无明显差异; 但是 DCBT 组急性 GVHD (acute GVHD, aGVHD) 和 cGVHD 的发生率显著高于 SCBT 组, 而 5 年白血病复发率显著低于 SCBT 组 ($P=0.04$), 尤其是急性淋巴细胞白血病患者; 2 组患者无白血病生存期 (leukemia free survival, LFS) 和总体生存期 (overall survival, OS) 没有差异。欧洲脐血移植协作组 (Eurocord) 对 SCBT 和 DCBT 也进行了比较分析, 结果显示 2 组移植后非复发死亡率及白血病复发率差异均无统计学意义, 但是 DCBT 组患者的 aGVHD 和 cGVHD 发生率显著高于 SCBT 组, 而 DCBT 组的 LFS 显著优于 SCBT 组^[7]。因此, SCBT 和 DCBT 究竟孰优孰劣, 尚存争议。

此外, 明尼苏达大学 Wagner 教授领衔开展了首个国际多中心 SCBT 和 DCBT 的随机对照研究^[8]。结果显示, DCBT 组和 SCBT 组患者 1 年总体生存率分别为 65% 和 73% ($P=0.17$), 而且 2 组移植患者的 DFS、中性粒细胞植入时间、TRM、移植后疾病复发率、免疫重建时间、II~IV 度 aGVHD 以及感染发生率等差异均无统计学意义; 不过有趣的是, SCBT 组血小板的植入更快, III、IV 度 aGVHD 以及广泛型 cGVHD 的发生率更低。为了验证这一发现, 法国 Michel 等^[9] 也进行了一项多中心的随机对照研究, 研究包括数据完整的患者 137 例, 其中 SCBT 组 68 例、DCBT 组 69 例。结果显示, DCBT 组在中性粒细

胞和血小板植入时间、OS、DFS 方面显示出略微优势, 但与 SCBT 组相比差异均无统计学意义; 2 组患者的移植后复发率无明显差异, 但 DCBT 组的复发时间较 SCBT 组显著延迟 ($P=0.04$), DCBT 组的中位复发时间为 282.4 d, 而 SCBT 组为 164.9 d。同时亚组分析显示, 在应用含氟达拉滨、环磷酰胺联合全身照射预处理的患者中, DCBT 的复发率 (7.1%) 低于 SCBT (21.9%, $P=0.05$); 2 组的 GVHD 发生率无显著差异, 不过 DCBT 组广泛型 cGVHD 的发生率高于 SCBT 组。

2 脐血 HSPC 体外扩增

体外扩增是解决脐血 HSPC 数量不足的重要策略, 多年来血液学家一直致力于脐血 HSPC 体外扩增的研究。但扩增的难题主要在于增加 TNC 数量的同时, HSPC 也不可避免地发生了分化, 导致扩增产物中较为原始的 HSPC 数量较少, 从而影响扩增产物的植入。因此, 如何在扩增 HSPC 数量的同时避免 HSPC 的过度分化是提高脐血 HSPC 扩增质量的关键。目前, 优化脐血 HSPC 体外扩增的方式主要有以下 5 个方面。

2.1 含 Notch 配体的扩增体系

Notch 信号通路是重要的信号转导通路之一, Notch 配体可通过结合 HSPC 表面的 Notch 1~4 调节其生长和增殖过程^[10]。在纯化的 CD34⁺ 细胞中加入重组的 Notch 配体 Delta 1, 与干细胞因子、白介素-3、白介素-6、血小板生成素和 Fms 样酪氨酸激酶 3 配体 (Fms-related tyrosine kinase 3 ligand, FLT-3L) 共同培养 16 d, CD34⁺ 细胞平均扩增倍数可达 222 倍^[11]。应用此扩增体系进行首次临床试验, 对 10 位患者进行 DCBT, 将其中一份脐血的 CD34⁺ 细胞分离并进行体外扩增, 另一份脐血未经处理; 在未经处理的脐血输注 4 h 后, 输注扩增的 CD34⁺ 细胞。结果显示, 患者的中性粒细胞和血小板植入的中位时间分别为 16 d 和 26 d, 但 3 个月后外周血嵌合度分析结果表明维持造血功能的细胞大多来源于未经处理的脐血, 提示扩增的脐血细胞可以促进脐血的早期植入, 但扩增的细胞主要为较晚期的 HSPC^[11]。

2.2 含铜螯合剂的扩增体系

铜离子作为多种细胞酶的辅助因子, 在细胞增殖和分化过程中发挥重要作用。高亲和力的铜螯合剂四乙基五胺 (TEPA) 能够抑制细胞因子驱动的早期 HSPC 分化, 可在不影响 HSPC 分化能力的前提下增加其自我更新的能

力。研究^[12]证实,使用TEPA处理脐血HSPC后,可增强其长期扩增潜能。TEPA通过降低细胞内铜离子浓度,延迟HSPC分化,提高扩增产物中原始的HSPC含量和增殖活性从而促进脐血植入^[13]。一项大规模多中心的临床研究^[14]采用经特殊处理的SCBT治疗恶性血液病患者101例,移植结果与同期接受DCBT的295例患者进行了比较。SCBT中的部分脐血(20%~50%)使用含有TEPA、FLT-3L、白介素-6、血小板生成素和干细胞因子的培养体系扩增培养3周后进行移植,结果显示中位TNC数和CD34⁺细胞分别扩增至原先的400倍和77倍,CD34⁺细胞平均输注量达 $9.7 \times 10^5/\text{kg}$ 。中性粒细胞植入时间(21 d vs 28 d, $P < 0.0001$)和血小板植入时间(54 d vs 105 d, $P = 0.008$)与同期DCBT组相比显著缩短,100 d的存活率显著提高(84.2% vs 74.6%, $P = 0.035$),表明用TEPA联合细胞因子进行扩增的脐血可显著缩短植入时间、改善患者预后。

2.3 含烟酰胺的扩增体系

烟酰胺(nicotinamide, NAM)是维生素B3的衍生物、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)的前体和NAD分解酶的有效抑制剂。临床前研究^[15]已证实采用NAM联合细胞因子培养脐血CD34⁺细胞可使其显著扩增,并可抑制其在体外过度分化。一项近期的临床试验研究^[16-17]中,36例患者采用清髓性预处理(myeloablative conditioning, MAC)方案后行DCBT,同时输注一份未经处理的脐血和另一份采用NAM扩增21 d的脐血。结果显示,与国际血液和骨髓移植研究中心统计的行CBT(80%为DCBT,20%为SCBT)且临床特征相近的患者($n=146$)的移植结果相比,接受经NAM扩增处理脐血的患者,中性粒细胞和血小板植入的中位时间分别为11.5 d和34 d,分别缩短了9.5 d($P < 0.001$)和12 d($P < 0.001$)。该研究证实了NAM扩增体系用于离体扩增脐血的可行性、安全性和有效性。另一项研究^[18]同样也表明应用NAM扩增体系扩增的脐血移植后中性粒细胞植入更快,感染发生率更低,100 d内住院时间更短。

2.4 含StemRegenin-1的扩增体系

StemRegenin-1(SR1)是一种嘌呤衍生物,通过拮抗HSPC中高表达的芳烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)调控造血干细胞的自我更新和增殖^[19]。明尼苏达大学的研究小组^[20]报道,用含SR1的扩增体系培养HSPC可使CD34⁺细胞扩增50倍,提高小鼠移植模型的

植入率。Wagner等^[21]报道了一项使用SR1扩增脐带血的临床研究结果,17名患者在MAC后接受了DCBT,在移植前15 d从细胞数量较少的脐血中分离出CD34⁺细胞,用SR1联合FLT-3L、血小板生成素和白介素-6共同培养,而剩下的CD34⁺细胞则重新冷冻保存。移植当天,先将另一份未处理的细胞数量较多的脐血解冻并输入患者体内,4 h后将扩增后的CD34⁺细胞和解冻的CD34⁺细胞一起输注。结果显示,扩增的脐血TNC数量中位数扩增了854倍,CD34⁺细胞扩增了330倍。所有患者均成功植入,扩增的脐血在65%(11/17)的患者中成功植入,并且具有持久的植入(中位随访时间272 d),未处理的脐血在剩余6名患者中成功植入。和历史对照相比,中性粒细胞(中位天数:15 d vs 24 d)和血小板(中位天数:49 d vs 89 d, $P = 0.001$)的植入时间显著缩短,住院时间亦显著缩短,并且在aGVHD、TRM和OS方面无显著差异。这一研究结果提示扩增的脐血同样可以长期植入。

2.5 含间充质干细胞的共培养扩增体系

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是造血微环境中重要的细胞成分,可通过直接接触或分泌细胞因子等方式调控造血细胞的增殖和分化。通过MSCs来模拟体内造血环境,可避免扩增培养中HSPC的过度分化^[22]。最近的相关研究^[23-24]发现脐带血HSPC在低氧条件下与MSCs共培养更能保持其干性。本研究组^[25]早在21世纪初就曾尝试应用MSCs扩增体系来扩增脐血,含有MSCs的扩增组在各时间点的TNC数均显著高于对照组,TNC中CD34⁺细胞、CD133⁺细胞、CD34⁺CD38⁺细胞以及CD34⁺CD133⁺细胞的比例也显著高于对照组;而且含有MSCs的扩增组各时间点各种祖细胞集落的种植率显著高于对照组,提示该扩增体系中较为原始的HSPC含量较高。de Lima等^[26]对31例患者进行了相关临床研究,将一份扩增的脐血与另一份未扩增的脐血同时输注,7位患者MSCs来源于亲缘相关的半相合供体,其余患者接受第三方工业化生产的MSCs产品。双份脐血中细胞数量较少的一份在移植前2周解冻,与MSCs共培养,并加入干细胞因子、FLT-3L、血小板生成素和粒细胞集落刺激因子。结果显示,CD133⁺CD33⁺细胞和CD34⁺CD38⁺细胞显著增加;培养2周后,TNC和CD34⁺细胞分别扩增至12.2倍和30.1倍。与未扩增的脐血相比,扩增脐血输注的TNC和CD34⁺细胞中位数量增加了1倍以上。将未处理的脐血在移植当天解冻并输注,然后输注扩增的脐血。与历史对照相比,中性粒细胞和血小板的中位植入时间

缩短了1周或1周以上,差异均有统计学意义;而aGVHD和cGVHD的发生率无显著差异。但移植后6个月时检测提示仅有13%的患者体内存在扩增的脐血,而超过1年的检测提示患者体内造血细胞均来自未扩增的脐血,提示含MSCs的扩增体系中HSPC仍难以维持长期造血,只能维持短期造血重建^[27]。

3 促进脐血HSPC的归巢

CBT除了通过DCBT以及离体扩增来解决单份脐血HSPC数量不足的问题外,促进脐血HSPC归巢也可改善脐血植入^[28]。目前该方面的研究主要集中在以下2个方向。

3.1 骨髓腔内直接注射脐血

目前, CBT通常通过静脉输注的方式,但在静脉输注的过程中,脐血HSPC易被宿主通过多种机制扣留,导致归巢至骨髓的有效细胞数量减少,将脐血直接注射到骨髓腔可以加快HSPC的归巢^[29]。Murata等^[30]开展了一项骨髓腔内直接注射单份脐血的Ⅱ期临床研究,共纳入21例恶性血液病患者,没有观察到与骨内注射有关的严重不良事件,结果显示中性粒细胞和血小板植入的中位时间分别为17 d和32 d,Ⅱ~Ⅳ级和Ⅲ~Ⅳ级aGVHD的发生率分别为44%和19%,证明了骨髓腔内直接输注脐血的安全性。此外,Okada等^[31]也开展了相关临床研究,共纳入40例血液系统恶性肿瘤患者,在局部麻醉后分别将脐血注射到髂骨的4个部位(每侧2个部位),每个部位大约注射6 mL脐血,结果显示86.8%的患者获得植入,中性粒细胞和血小板植入的累积发生率分别为86.4%和85.5%,植入的中位时间分别为17.5 d和44 d,重度aGVHD的发生率为47.5%,广泛型cGVHD的累积发生率为3%,这些结果表明骨髓腔内直接注射脐血可改善造血系统重建并降低cGVHD的发生率。最近,一项前瞻性临床研究^[32]统计了23例接受单份脐血骨髓腔内注射的患者,结果显示注射后28 d中性粒细胞植入的累积发生率为(77.3±9.0)%,90 d中性粒细胞 $>0.5 \times 10^9/L$ 和血小板 $>50 \times 10^9/L$ 的累积发生率分别为(82±9)%和(70±10)%,所有患者均未出现严重的aGVHD。该研究进一步证明了骨髓腔内注射脐血移植是可行的,可以促进血液系统造血功能的恢复;同时证明了将脐血干细胞直接输注到缺氧的造血干细胞壁龛中有助于保留其干性。

3.2 前列腺素E2的应用

前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2)具有刺激多系祖细胞增殖和归巢的潜能。由于PGE2的半衰期短(1~2 min),在体外研究和临床研究中常使用PGE2的稳定修饰物16,16-二甲基前列腺素E2 (16,16-dimethyl-PGE2, dmPGE2)。dmPGE2可在体内增加HSPC数量而不影响其自我更新和分化潜能^[33]。

这是通过调控HSPC增殖和分化相关的Wnt/ β -catenin信号通路实现的^[34]。Cutler等^[35]对12名接受DCBT的患者进行了Ⅰ期临床试验,旨在评估使用dmPGE2离体处理单份脐血的安全性和治疗效果。将细胞数量较多的一份脐血与10 $\mu\text{mol/L}$ dmPGE2在37 °C下一起培养2 h后输注给患者,另一份未经处理的脐血在4 h后输注。结果显示中性粒细胞植入的中位时间为17.5 d,短于历史对照的21 d ($P=0.045$)。此外,12名患者中的10名患者获得处理脐血的长期植入,推测dmPGE2促进HSPC归巢的作用可能加速其植入,尽管可能也与dmPGE2处理的脐带血细胞数量较多有关。

4 第三方HSPC的应用

应用第三方HSPC与脐血联合移植(haplo-cord transplant)可能会加快脐血的植入。van Besien等^[36]在一项回顾性研究中比较了97例接受单倍体干细胞联合SCBT和193例接受DCBT的恶性血液病患者,结果显示前一组患者中性粒细胞和血小板植入更快,Ⅱ~Ⅳ级aGVHD和cGVHD发生率更低,复发率和无GVHD、无复发生存(GVHD-free relapse-free survival, GRFS)率也更低,差异均具有统计学意义。同时,单倍体干细胞联合CBT对缺少HLA匹配供者的患者而言也是一种较容易获得的移植物来源。此外,有研究^[37]报道了42例单倍体干细胞联合CBT治疗高危恶性血液病的患者,结果显示中性粒细胞植入的中位时间为11 d,血小板植入的中位时间为19.5 d,1年非复发死亡率为19%,3年GRFS率、无进展生存率和总体生存率分别为53%、62%和65%,中位随访42个月,与van Besien等^[36]的研究结果一致,表明接受单倍体干细胞联合CBT的患者在造血系统重建和GVHD的发生率方面均优于DCBT组。

5 小结和展望

多种改善脐血植入的策略在基础研究和临床试验中均取得了可喜的成绩,但这些改进措施尚不够完善,其

中许多机制尚不明确, 仍有待于不断改进以及开发更多更新的方法。随着脐血体外扩增、促进归巢等技术的研

究和应用, CBT在恶性及非恶性血液病的治疗中将会有更广阔的应用前景。

参·考·文·献

- [1] Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling[J]. *N Engl J Med*, 1989, 321(17): 1174-1178.
- [2] Milano F, Appelbaum FR, Delaney C. Cord-blood transplantation in patients with minimal residual disease[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(22): 2204-2205.
- [3] Hiwarkar P, Qasim W, Ricciardelli I, et al. Cord blood T cells mediate enhanced antitumor effects compared with adult peripheral blood T cells[J]. *Blood*, 2015, 126(26): 2882-2891.
- [4] Mayani H, Wagner JE, Broxmeyer HE. Cord blood research, banking, and transplantation: achievements, challenges, and perspectives[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2019, 55(1): 48-61.
- [5] Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy[J]. *Blood*, 2005, 105(3): 1343-1347.
- [6] Verneris MR, Brunstein CG, Barker J, et al. Relapse risk after umbilical cord blood transplantation: enhanced graft-versus-leukemia effect in recipients of 2 units[J]. *Blood*, 2009, 114(19): 4293-4299.
- [7] Ruggeri A, Sanz G, Bittencourt H, et al. Comparison of outcomes after single or double cord blood transplantation in adults with acute leukemia using different types of myeloablative conditioning regimen, a retrospective study on behalf of Eurocord and the Acute Leukemia Working Party of EBMT[J]. *Leukemia*, 2014, 28(4): 779-786.
- [8] Wagner JE Jr, Eapen M, Carter S, et al. One-unit versus two-unit cord-blood transplantation for hematologic cancers[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(18): 1685-1694.
- [9] Michel G, Galambrun C, Sirvent A, et al. Single- vs double-unit cord blood transplantation for children and young adults with acute leukemia or myelodysplastic syndrome[J]. *Blood*, 2016, 127(26): 3450-3457.
- [10] Dahlberg A, Woo S, Delaney C, et al. Notch-mediated expansion of cord blood progenitors: maintenance of transcriptional and epigenetic fidelity[J]. *Leukemia*, 2015, 29(9): 1948-1951.
- [11] Delaney C, Heimfeld S, Brashem-Stein C, et al. Notch-mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution[J]. *Nat Med*, 2010, 16(2): 232-236.
- [12] Peled T, Mandel J, Goudsmid RN, et al. Pre-clinical development of cord blood-derived progenitor cell graft expanded *ex vivo* with cytokines and the polyamine copper chelator tetraethylenepentamine[J]. *Cytotherapy*, 2004, 6(4): 344-355.
- [13] de Lima M, McMannis J, Gee A, et al. Transplantation of *ex vivo* expanded cord blood cells using the copper chelator tetraethylenepentamine: a phase I / II clinical trial[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2008, 41(9): 771-778.
- [14] Stiff PJ, Montesinos P, Peled T, et al. Cohort-controlled comparison of umbilical cord blood transplantation using carlecortemcel-L, a single progenitor-enriched cord blood, to double cord blood unit transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, 24(7): 1463-1470.
- [15] Peled T, Shoham H, Aschengrau D, et al. Nicotinamide, a SIRT1 inhibitor, inhibits differentiation and facilitates expansion of hematopoietic progenitor cells with enhanced bone marrow homing and engraftment[J]. *Exp Hematol*, 2012, 40(4): 342-355.
- [16] Horwitz ME, Wease S, Blackwell B, et al. Phase I / II study of stem-cell transplantation using a single cord blood unit expanded *ex vivo* with nicotinamide[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(5): 367-374.
- [17] Horwitz ME, Chao NJ, Rizzieri DA, et al. Umbilical cord blood expansion with nicotinamide provides long-term multilineage engraftment[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(7): 3121-3128.
- [18] Anand S, Thomas S, Hyslop T, et al. Transplantation of *ex vivo* expanded umbilical cord blood (NiCord) decreases early infection and hospitalization[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23(7): 1151-1157.
- [19] Leung A, Zulick E, Skvir N, et al. Notch and aryl hydrocarbon receptor signaling impact definitive hematopoiesis from human pluripotent stem cells[J]. *Stem Cells*, 2018, 36(7): 1004-1019.
- [20] Boitano AE, Wang J, Romeo R, et al. Aryl hydrocarbon receptor antagonists promote the expansion of human hematopoietic stem cells[J]. *Science*, 2010, 329(5997): 1345-1348.
- [21] Wagner JE Jr, Brunstein CG, Boitano AE, et al. Phase I / II trial of StemRegenin-1 expanded umbilical cord blood hematopoietic stem cells supports testing as a stand-alone graft[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 18(1): 144-155.
- [22] Robinson SN, Simmons PJ, Yang H, et al. Mesenchymal stem cells in *ex vivo* cord blood expansion[J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2011, 24(1): 83-92.
- [23] Zhao D, Liu L, Chen Q, et al. Hypoxia with Wharton's jelly mesenchymal stem cell coculture maintains stemness of umbilical cord blood-derived CD34⁺ cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 158.
- [24] Lo Iacono M, Russo E, Anzalone R, et al. Wharton's jelly mesenchymal stromal cells support the expansion of cord blood-derived CD34⁺ cells mimicking a hematopoietic niche in a direct cell-cell contact culture system[J]. *Cell Transplant*, 2018, 27(1): 117-129.
- [25] 郝思国, 孙关林, 郭维礼, 等. 骨髓基质细胞共培养体系促进人脐血 CD133⁺ 细胞的体外扩增[J]. *中华器官移植杂志*, 2005, 26(1): 28-32.
- [26] de Lima M, McNiece I, Robinson SN, et al. Cord-blood engraftment with *ex vivo* mesenchymal-cell coculture[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(24): 2305-2315.
- [27] Baron F, Ruggeri A, Nagler A. Methods of *ex vivo* expansion of human cord blood cells: challenges, successes and clinical implications[J]. *Expert Rev Hematol*, 2016, 9(3): 297-314.
- [28] Thompson PA, Rezvani K, Hosing CM, et al. Umbilical cord blood graft engineering: challenges and opportunities[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2015, 50(Suppl 2): S55-S62.
- [29] Frasson F, Gualandi F, Podesta M, et al. Direct intrabone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I / II study[J]. *Lancet Oncol*, 2008, 9(9): 831-839.
- [30] Murata M, Maeda Y, Masuko M, et al. Phase II study of intrabone single unit cord blood transplantation for hematological malignancies[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(8): 1634-1639.
- [31] Okada M, Tasaka T, Ikegame K, et al. A prospective multicenter phase II study of intrabone marrow transplantation of unwashed cord blood using reduced-intensity conditioning[J]. *Eur J Haematol*, 2018, 100(4): 335-343.
- [32] Bonifazi F, Dan E, Labopin M, et al. Intrabone transplant provides full stemness of cord blood stem cells with fast hematopoietic recovery and low GVHD rate: results from a prospective study[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2019, 54(5): 717-725.
- [33] Hagedorn EJ, Durand EM, Fast EM, et al. Getting more for your marrow: boosting hematopoietic stem cell numbers with PGE2[J]. *Exp Cell Res*, 2014, 329(2): 220-226.
- [34] Hoggatt J, Singh P, Sampath J, et al. Prostaglandin E2 enhances hematopoietic stem cell homing, survival, and proliferation[J]. *Blood*, 2009, 113(22): 5444-5455.
- [35] Cutler C, Multani P, Robbins D, et al. Prostaglandin-modulated umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Blood*, 2013, 122(17): 3074-3081.
- [36] van Besien K, Hari P, Zhang MJ, et al. Reduced intensity haplo plus single cord transplant compared to double cord transplant: improved engraftment and graft-versus-host disease-free, relapse-free survival[J]. *Haematologica*, 2016, 101(5): 634-643.
- [37] Hsu J, Artz A, Mayer SA, et al. Combined haploidentical and umbilical cord blood allogeneic stem cell transplantation for high-risk lymphoma and chronic lymphoblastic leukemia[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, 24(2): 359-365.

[收稿日期] 2020-01-15

[本文编辑] 瞿麟平

