

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.18.002

## 未动员外周血造血干细胞采集的临床效果评价\*

郑伟萍, 方琦, 陆紫敏<sup>△</sup>, 刘承重, 李雪晨

(同济大学附属同济医院输血科, 上海 200065)

**摘要:**目的 探讨未动员外周血造血干细胞(PBSC)采集影响因素及采集效果。方法 应用 MCS+血细胞分离机对该院 130 例未动员采集者进行 PBSC 采集, 获得单个核细胞(MNC)、白细胞(WBC)、CD34<sup>+</sup> 细胞数分别与采集前体质量指数(BMI)、三酰甘油(TG)、载脂蛋白(apo)B、红细胞比容(Hct)、血小板(PLT)、WBC、血红蛋白(Hb)、MNC 等指标, 以及采集时循环数、循环血量等因素进行相关性分析; 同时对其中 50 岁以下的 2 组(健康组与疾病组)的 PBSC 采集效果进行比较。结果 所有采集者均采集成功:(1)其外周血中是存在并能够采集到一定数量的 MNC、CD34<sup>+</sup> 细胞的。(2)50 岁以下采集者比较:健康组采集物中 MNC、WBC 计数均高于疾病组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 但 2 组采集物 CD34<sup>+</sup> 细胞数比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。(3)采集物的 MNC 总量和 CD34<sup>+</sup> 细胞数量与采集前自身的 apoB、PLT、WBC、Hb、TG 均无明显相关性。采集前的外周血 MNC、BMI、Hct 及采集时循环血量、循环数对采集效果有相关影响, 其中外周血 MNC 水平与采集物 MNC 水平呈正相关。结论 未作动员的采集者其外周血可安全采集到一定浓度的、并能够满足临床治疗需要的 PBSC。采集者自身 PBSC 采集效果与采集前 MNC、BMI、Hct 水平及采集时循环血量、循环数有关联, 其中采集前 MNC 数量可预测采集者 PBSC 采集效果。

关键词: 肿瘤; 外周血造血干细胞; 采集效果

中图分类号: R446.11

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)18-2690-04

**The clinical evaluation on the collection of peripheral blood stem cell without mobilization\***ZHENG Weiping, FANG Qi, LU Zimin<sup>△</sup>, LIU Chengzhong, LI Xuechen

(Department of Blood Transfusion, the Affiliated Tongji Hospital of Shanghai

Tongji University, Shanghai 200065, China)

**Abstract: Objective** To investigate the possible factors that will affect the collection of peripheral blood stem cells without mobilization. **Methods** The autologous peripheral blood stem cells (PBSC) from 130 cases (without using mobilization with granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)) were collected by MCS+ blood cell separator. We investigated the correlation between the number of PBSC [collected by mononuclear cells (MNC), white blood cell (WBC) and CD34<sup>+</sup>, respectively] and the some possible factors [including body mass index (BMI), triglyceride (TG), apolipoprotein (apo) B, red blood cell hematocrit (Hct), platelet (PLT) count, WBC count, hemoglobin (Hb), MNC count, the number of cycles and the amount of blood circulation]. We also compared two groups (healthy vs. disease; under 50 years of age) of the efficiency of the PBSC collection. **Results** Our results showed that the peripheral blood were collected successfully from all 130 cases. In addition, we were able to collect a certain number of MNC, CD34<sup>+</sup> cells. By comparing two groups of collectors (under 50 years of age); the number of MNC and WBC of the health group were significantly higher than the ones of disease group ( $P < 0.05$ ). However, there was no significant difference ( $P > 0.05$ ) in the number of CD34<sup>+</sup> between two groups. There was no significant correlation in the number of MNC, CD34<sup>+</sup> cells from peripheral blood stem cell and before collected in peripheral blood of apoB, PLT, WBC, Hb, and TG. In addition, there is a significant correlation in the efficiency of the collection from peripheral blood stem cell and before collected in peripheral blood of MNC, BMI, Hct and the number of cycles and the amount of blood circulation when being collected. The MNC concentration before and after collected was positively correlated. **Conclusion** PBSC can be collected from peripheral blood of collectors (the collectors of whom has not been

\* 基金项目: 上海市卫生局科研课题资助项目(2010046); 上海市公共卫生重点学科建设计划资助项目(12GWZX0202)。

作者简介: 郑伟萍, 女, 主管技师, 主要从事临床医学检验方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: zimin136817@163.com。

mobilized), and the concentration of it can meet the clinical needs. The correlation was observed between self-collected PBSC and the MNC, BMI, Hct levels, the number of cycles and the amount of blood circulation. The number of MNC before collection can predict the effective activity of PBSC collected from the harvester.

**Key words:** neoplasms; peripheral blood stem cell; collection effect

近年来国内外学者多采用重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)动员外周血造血干细胞(PBSC),均获得了较高的干细胞产量,并应用于多个领域,有关PBSC动员采集相关研究报道较多,但对未采用rhG-CSF动员(简称未动员)的PBSC相关研究国内外报道甚少<sup>[1]</sup>。本研究对本院自2014年1月至2017年6月收集的130例未动员采集者PBSC采集效果与部分影响因素进行分析,旨在进一步提高未动员患者自身PBSC采集效果提供相关理论依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 所有入组者均为PBSC采集者共130例,所有采集者采集前均未采用rhG-CSF作动员,其中25例采集者为健康自愿捐献外周血干细胞的亲缘者,简称健康组;男12例、女13例;年龄20~49岁,中位年龄37.14岁。其余105例采集者均为肿瘤疾病患者;男55例、女50例;年龄24~75岁,中位年龄53.27岁;肿瘤疾病主要包括肺癌、肠道肿瘤、子宫肿瘤、卵巢肿瘤、前列腺癌、膀胱肿瘤等。50岁以下采集者共33例,简称疾病组;男15例、女18例;年龄24~49岁,中位年龄39.92岁。比较50岁以下2组(健康组与疾病组)采集者的年龄、性别,以及采集前的血红蛋白(Hb)及血小板(PLT)计数、白细胞(WBC)计数等各项指标差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有入组肿瘤疾病患者在采集前3周内均未接受过抗肿瘤治疗。

**1.2 方法** 均采用MCS+血细胞分离机(美国血液技术公司)及PBSC专用一次性管道(美国血液技术公司),输入采集者性别、身高、体质量、外周血红细胞压积,按PBSC程序单采,每次循环总血量2 000~6 000 mL,全血流速30~65 mL,抗凝剂与全血的比例为1:10~1:12,均选用肘静脉或股静脉置管。采集速度为20~50 mL/min,采集时间90~240 min。所有入组的采集者术前均口服10%葡萄糖酸钙80 mL。每袋采集的单个核细胞悬液40~80 mL。

**1.3 仪器与试剂** 血液保存液(ACD)成分为枸橼酸钠、枸橼酸等(上海输血技术有限公司)。取混匀后的PBSC采集物少许悬液,采用全自动血细胞分析仪(日本Sysmex公司XS-800i)进行WBC计数、瑞氏染色显微镜下行单个核细胞(MNC)分类、采用流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司FC-500)进行CD34<sup>+</sup>细胞计数。

**1.4 检测相关因素** 所有入组采集者采集前均检测WBC计数、体质量指数(BMI)、三酰甘油(TG)、载脂蛋白(apo)B、红细胞比容(Hct)、PLT计数、Hb、MNC计数等指标,并与入组患者PBSC采集物中MNC、WBC和CD34<sup>+</sup>细胞数量进行比较,同时分析采集循环血容量、处理血量及循环次数与采集效果(尤其是产品中的CD34<sup>+</sup>细胞)的关系。CD34<sup>+</sup>细胞百分率与采集物白细胞总数,以及采集量的乘积除以采集者体质量即为采集物CD34<sup>+</sup>细胞总数。MNC百分率与采集物白细胞总数的乘积即为采集物MNC水平。

**1.5 统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验;计数资料以百分率表示。多因素分析采用多元线性回归分析,为二分类资料的多因素分析采用Logistic回归模型,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 采集效果** 入组采集的130例外周血干细胞取混匀后的采集物少许悬液计数WBC、MNC、CD34<sup>+</sup>细胞数。采集物MNC%水平为(65.20%±18.29%);CD34<sup>+</sup>%水平为(1.71%±1.32%);WBC计数(68.25±48.81)×10<sup>9</sup>/kg;MNC(0.35±0.38)×10<sup>8</sup>/kg;CD34<sup>+</sup>(0.93±1.36)×10<sup>6</sup>/kg。

**2.2 不同组别采集前指标、采集物参数比较** 两组的相关指标比较,健康组采集物中MNC(0.51±0.19)×10<sup>8</sup>/kg、WBC计数(104.14±34.27)×10<sup>8</sup>/kg均高于疾病组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。健康组采集前MNC、WBC指标及采集物MNC%、CD34<sup>+</sup>%与疾病组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。

**2.3 影响PBSC采集物多元回归分析** 分别对采集者BMI、TG、apoB、Hct、PLT、WBC、Hb、MNC等指标,以及采集时循环数、循环血量等因素与采集物MNC%、CD34<sup>+</sup>%、WBC计数、MNC水平、MNC计数、CD34<sup>+</sup>细胞数的影响进行相关性分析。结果显示:采集前BMI、MNC水平对采集物MNC%有影响( $P$ 均 $< 0.05$ ,回归系数分别为1.264和10.173),见表2。采集前所有检测指标及采集时循环因素对采集物CD34<sup>+</sup>%均无影响;采集时循环血量对采集物WBC计数有影响( $P < 0.05$ ,回归系数为0.016),见表3。采集前MNC水平与采集物MNC水平呈正相关( $P < 0.05$ ,回归系数为19.860),其他采集前检测

指标以及采集时循环因素与采集物 MNC 水平均无相关性;采集前 Hct 和采集时循环数对采集物 MNC 计数有影响,见表 4。采集时循环血量、循环数对采集物

CD34<sup>+</sup> 细胞数也有影响( $P$  均  $< 0.05$ , 回归系数分别为 0.001 和  $-0.192$ ),采集前所有检测指标与采集物 CD34<sup>+</sup> 细胞数均无相关性。

表 1 两组采集者 PBSC 采集效果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	采集前 WBC ( $\times 10^9/\text{kg}$ )	采集前 MNC% (%)	采集物 CD34% (%)	采集物 MNC% (%)	采集物 CD34 <sup>+</sup> ( $\times 10^6/\text{kg}$ )	采集物 MNC ( $\times 10^8/\text{kg}$ )	采集物 WBC ( $\times 10^9/\text{kg}$ )
健康组	25	6.61 ± 1.42	31.07 ± 6.51	1.31 ± 0.74	61.24 ± 15.21	0.95 ± 0.41	0.51 ± 0.19	104.14 ± 34.27
疾病组	33	6.11 ± 4.02	33.50 ± 11.45	1.59 ± 0.81	62.76 ± 18.60	1.02 ± 0.89	0.28 ± 0.25	62.37 ± 58.19
<i>P</i>		$> 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$	$< 0.05$	$< 0.05$

表 2 130 例采集者 MNC 多元回归分析

因素	$\beta$	SE	Wald	<i>P</i>	95%CI
BMI	1.264	0.470	7.242	0.008	0.332 ~ 2.196
TG	-2.810	1.661	2.862	0.094	-6.104 ~ 0.485
apoB	-0.939	4.334	0.047	0.829	-9.535 ~ 7.657
Hct	-0.662	0.421	2.476	0.119	-1.496 ~ 0.172
PLT	-0.025	0.023	1.191	0.278	-0.071 ~ 0.021
WBC	-0.497	1.286	0.149	0.700	-3.049 ~ 2.054
Hb	-0.066	0.118	0.313	0.577	-0.300 ~ 0.168
MNC%	-0.402	0.350	1.314	0.254	-1.097 ~ 0.293
MNC	10.173	4.647	4.792	0.031	0.955 ~ 19.392
循环血量	-0.004	0.003	1.816	0.181	-0.009 ~ 0.002
循环数	1.570	1.074	2.136	0.147	-0.561 ~ 3.700

表 3 130 例采集者 WBC 多元回归分析

因素	$\beta$	SE	Wald	<i>P</i>	95%CI
BMI	-2.533	1.369	3.423	0.067	-5.249 ~ 0.183
TG	5.845	4.841	1.458	0.230	-3.757 ~ 15.447
apoB	10.128	12.631	0.643	0.425	-14.926 ~ 35.181
Hct	-0.543	1.226	0.196	0.659	-2.975 ~ 1.889
PLT	-0.015	0.068	0.050	0.824	-0.150 ~ 0.119
WBC	-2.300	3.749	0.376	0.541	-9.737 ~ 5.137
Hb	0.054	0.344	0.025	0.874	-0.627 ~ 0.736
MNC%	-0.743	1.021	0.530	0.468	-2.769 ~ 1.282
MNC	19.806	13.546	2.138	0.147	-7.062 ~ 46.674
循环血量	-0.016	0.008	4.082	0.046	0.000 ~ 0.031
循环数	-2.773	3.130	0.785	0.378	-8.982 ~ 3.436

表 4 130 例采集者 MNC 多元回归分析

因素	$\beta$	SE	Wald	<i>P</i>	95%CI
BMI	-0.009	0.008	1.195	0.277	-0.024 ~ 0.007
TG	-0.025	0.028	0.790	0.376	-0.080 ~ 0.030
apoB	0.022	0.073	0.095	0.758	-0.122 ~ 0.167

续表 4 130 例采集者 MNC 多元回归分析

因素	$\beta$	SE	Wald	<i>P</i>	95%CI
Hct	-0.015	0.007	4.459	0.037	-0.029 ~ -0.001
PLT	0.001	0.001	0.053	0.818	-0.001 ~ 0.001
WBC	0.008	0.022	0.144	0.705	-0.035 ~ 0.051
Hb	0.001	0.002	0.391	0.533	-0.003 ~ 0.005
MNC%	0.001	0.006	0.001	0.984	-0.012 ~ 0.012
MNC	0.071	0.078	0.829	0.365	-0.084 ~ 0.226
循环血量	0.001	0.001	0.100	0.753	0.000 ~ 0.001
循环数	0.039	0.018	4.656	0.033	0.000 ~ 0.003

### 3 讨论

有效的 PBSC 主要是通过血细胞分离机利用重力离心法分离获得的。然而影响 PBSC 采集数量和质量因素较多,虽然采用粒细胞集落刺激因子(G-CSF)动员的 PBSC 较未动员的 PBSC 产量要高,但其费用高并存在采集者用药 4~5 d 出现不同程度全身不适症状(包括低热或骨骼酸痛等)而容易遭采集者拒绝<sup>[2]</sup>。因此有必要对未动员的 PBSC 采集影响因素及采集效果进行研究。本研究入组的 130 例外周血干细胞采集者术前均未采用 G-CSF 作动员,笔者对其进行自身 PBSC 采集并检测采集物的 WBC、MNC、CD34<sup>+</sup> 细胞总数及 MNC、CD34<sup>+</sup> 百分率,分别是  $(68.25 \pm 48.81) \times 10^9/\text{kg}$ 、 $(0.35 \pm 0.38) \times 10^8/\text{kg}$ 、 $(0.93 \pm 1.36) \times 10^6/\text{kg}$ 、 $(65.20\% \pm 18.29\%)$ 、 $(1.71\% \pm 1.32\%)$ ,提示未作动员的采集者其外周血中是存在并能够采集到一定数量的 MNC、CD34<sup>+</sup> 细胞的,而且其数量是达到细胞免疫治疗所需要的临床治疗阈值,即能够在患者体内得到增殖与分化的。本研究还对 50 岁以下采集者进行分组:即健康组与疾病组,并比较两组采集前 MNC、WBC 计数指标的差异,确定差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),其两组采集物参数结果方有可比性。健康组采集物参数与疾病组采集物参数作统计比较分析,结果显示:健康组采

集物中 MNC  $(0.51 \pm 0.19) \times 10^8/\text{kg}$ 、WBC 计数  $(104.14 \pm 34.27) \times 10^8/\text{kg}$  均高于疾病组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。这可能与肿瘤患者本身骨髓细胞储备较差, 加上反复的化疗, 导致骨髓细胞增生能力的减弱, PBSC 的数量相应减少<sup>[3]</sup>。然而本研究健康组采集物 CD34<sup>+</sup> 细胞数与疾病组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 其结果与沈亚文等<sup>[4]</sup>报道相似。CD34<sup>+</sup> 是造血干细胞重要标志, 但其检测方法在不同实验室的结果差异很大, 重复性、可比性较差; 而 MNC 可以用来估计 CD34<sup>+</sup> 细胞的水平, 其仅用显微镜及全自动细胞分析仪两种仪器即可, 检测结果准确稳定<sup>[5]</sup>。有学者认为, CD34<sup>+</sup> 细胞采集量与外周血 MNC 数值有明显相关, 并可考虑 MNC 数值作为预测采集物中 CD34<sup>+</sup> 细胞数的简单预测指标<sup>[6]</sup>。本研究现象提示用 MNC 计数取代 CD34<sup>+</sup> 细胞计数来作为造血干细胞移植中的造血干细胞水平的指标是完全可行的<sup>[4]</sup>。

以血细胞分离机单位循环量所得的产物中 MNC 数和 CD34<sup>+</sup> 细胞数是衡量 PBSC 采集效果, 有关对采集前的外周血 WBC 计数、MNC 计数等指标与未动员采集 PBSC 的采集效果是否相关的研究国内外报道甚少。本研究分别对采集者 BMI、TG、apoB、Hct、PLT、WBC、Hb、MNC 等指标, 以及采集时循环数、循环血量等因素与采集物 MNC%、CD34<sup>+</sup>%、WBC 计数、MNC 计数、CD34<sup>+</sup> 细胞数的影响进行相关性分析。结果显示, 采集前 BMI、MNC 水平与采集物 MNC% 呈正相关, 与国内报道结果相似<sup>[7]</sup>。本研究超重供者采集前并未经 G-CSF 动员, 其机制考虑与供者体质量增大其 MNC 储备量增加有关; 研究还发现采集时循环血量与采集物 WBC 计数呈负相关, 其原因可能与个体内外周血 WBC 总数相对固定有关。研究还发现采集前 Hct 与采集物 MNC 数也呈负相关, 有学者研究证实红细胞表面存在炎性因子受体, 炎性细胞因子可通过受体来抑制红细胞成熟, 而 WBC 是机体常见的炎性标志物, Hct 与采集物 MNC 数的相关性还有待进一步大样本研究<sup>[8-9]</sup>。同时笔者还观察到采集前外周血 MNC 水平与采集物 MNC 水平呈正相关, 这为提前预测 MNC 数量, 进行采集量的控制提供了一定的数据参考。本研究还发现采集时采集循环数与采集物 MNC 计数正相关, 采集循环血量、循环

数对采集物 CD34<sup>+</sup> 细胞数也有影响因素, 但循环血量与 CD34<sup>+</sup> 细胞数呈正相关, 采集物中的 CD34<sup>+</sup> 细胞数与采集时的循环数、循环血量变化不一致性可能与个体内外周血 CD34<sup>+</sup> 细胞数量相对固定有关, 还可能与诸如个体采集时机、疾病种类、年龄、性别等因素有关联, 还有待进一步大样本研究。

综上所述, 应用血细胞分离机对未动员采集者进行 PBSC 采集, 不仅安全、采集成功, 而且能够采集到一定浓度的、并能够满足临床治疗需要的 PBSC。采集者在采集前的外周血 MNC、BMI、Hct 及采集时循环血量、循环数对采集效果有相关影响, 其中采集前 MNC 数量可预测采集者 PBSC 采集效果。

## 参考文献

- [1] 李强, 刘艳超, 崔剑颖, 等. 自体外周血干细胞移植治疗心肌梗死[J]. 昆明医科大学学报, 2016, 37(7): 103-106.
- [2] 许多荣, 李娟, 陈惠珍, 等. 伴海洋性贫血供者外周造血干细胞采集效果分析[J]. 中国实用内科杂志, 2010, 30(11): 1007-1009.
- [3] 张曦, 李忠俊, 陈幸华, 等. 血液病患者/健康供者外周血造血干细胞动员及采集效果分析[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(12): 1010-1013.
- [4] 沈亚文, 王晓华, 孙巍. 造血干细胞移植中单个核细胞计数与 CD34 细胞计数的比较[J]. 中国医学工程, 2013, 21(1): 96.
- [5] 王亮, 朱康儿, 张涛, 等. 单个核细胞计数对异基因外周血干细胞移植后造血重建的预测研究[J]. 中国实用内科杂志, 2010, 30(3): 223-226.
- [6] 孙巍, 高敏, 谢嵘, 等. 151 例淋巴瘤外周血造血干细胞采集影响因素分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(2): 416-421.
- [7] 付阿丹, 邓琳. 老年糖尿病周围血管病变患者外周血干细胞采集效果影响分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(7): 799-800.
- [8] LEE Y J, LEE J W, KIM J K, et al. Elevated white blood cell count is associated with arterial stiffness[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2009, 19(1): 3-7.
- [9] HUANG J S, ZHENG J F, ZHANG J, et al. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers[J]. Lab Med Clin, 2010, 7(20): 2230-2232.

(收稿日期: 2018-01-29 修回日期: 2018-04-14)