

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 07. 012

未动员的外周血造血干细胞采集效果及影响因素^{*}

陆紫敏,李雪晨,方 琦,王加勇

同济大学附属同济医院输血科,上海 200065

摘 要:**目的** 探讨未动员的外周血造血干细胞(PBSC)采集效果及影响因素。**方法** 应用血细胞分离机对 112 例未经重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)动员的健康供者进行 PBSC 采集,并分析年龄、体质量指数(BMI)、采集前血常规指标、采集循环血容量、处理血量及循环次数等因素对男女两组供者所采集获得的单个核细胞(MNC)、CD34⁺计数的影响,同时比较分析男女两组供者采集前血常规指标及采集过程、采集物等指标。**结果** 男性组年龄,BMI,采集前血细胞比容(Hct)、血红蛋白(Hb)、MNC 计数、白细胞(WBC)计数,总循环血量高于女性组,而采集处理血量、采集物中 MNC 计数低于女性组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。在男性组中,采集物中 MNC 计数的影响因素为采集循环数($P=0.018$),CD34⁺计数的影响因素为采集前血小板(PLT)计数($P=0.048$)。女性组年龄、采集前 PLT 计数、WBC 计数、MNC 百分比、MNC 计数是采集物中 MNC 计数的影响因素($P<0.05$),采集前 Hct、PLT 计数及采集处理血量是采集物中 CD34⁺计数的影响因素($P<0.05$)。**结论** 未经 rhG-CSF 动员的健康供者其外周血中存在一定数量的 MNC、CD34⁺细胞,并能采集到满足临床嵌合抗原受体 T 细胞疗法所需要的 MNC 阈值。健康供者不同年龄、性别、总循环血量等可致采集效果不一致;采集前关注血常规中 PLT 计数有助于预测 PBSC 采集效果。

关键词:重组人粒细胞集落刺激因子; 外周血造血干细胞; 单个核细胞

中图法分类号:R457

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)07-0906-04

Influenced factors on the collection of peripheral blood stem cells without mobilization in healthy donors^{*}

LU Zimin, LI Xuechen, FANG Qi, WANG Jiayong

Department of Blood Transfusion, Tongji Hospital of Tongji University, Shanghai 200065, China

Abstract: Objective To investigate the factors influencing the efficiency of the collection of peripheral blood stem cells (PBSC) without mobilization. **Methods** The records of 112 cases with healthy donors without mobilization of recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) were retrospectively analyzed. PBSC were collected by MCS + blood cells separator. The influences of age, body mass index (BMI), blood routine index indicators before collection, circulating blood volume, blood volume and number of cycles on the mononuclear cells (MNC) and CD34⁺ in the collection between male group and female group were analyzed. Blood routine indicators, collection process and collected objects were also compared between male group and female group. **Results** The age, BMI, pre-collection hematocrit (Hct), hemoglobin (Hb), MNC count WBC count and total circulation of the male group were significantly higher than those of the female group ($P<0.05$), while processed blood volume and MNC counts were significantly lower than that of female group ($P<0.05$). The number of collection cycles was the influenced factors of the MNC count of the male group ($P=0.018$), and the CD34⁺ counts was the influenced factor of PLT count before collection ($P=0.048$). Age, PLT count before collection, the WBC count and the percent of MNC and MNC count were the influenced factors of MNC count in the collection in female group ($P<0.05$). Hct, PLT count and processed blood volume were the influenced factors of CD34⁺ count in the collection ($P<0.05$). **Conclusion** Donors who are not mobilized have a certain number of MNC and CD34⁺ cells in their peripheral blood, which could collect the MNC threshold required to meet clinical CAR-T cells therapy. Different age, gender, the total circulation the amount of blood circulation may result in inconsistent collection results. Focusing on the PLT count in blood routines before collection could help predict the acquisition effect of PBSC.

Key words: recombinant human granulocyte colony stimulating factor; peripheral blood stem cells; mononuclear cells

^{*} 基金项目:上海市公共卫生重点学科建设项目(12GWZX0202)。
作者简介:陆紫敏,女,主任医师,主要从事血液病和输血医学方面的研究。

造血干细胞移植或细胞治疗已成为治疗多种血液病及非血液系统疾病的重要方法。近年来,用血细胞分离机采集外周血造血干细胞(PBSC)已逐渐成为造血干细胞移植或治疗的主要方法,能否采集到足够数量具有活性的 PBSC 是干细胞移植或治疗成功的关键。目前对 PBSC 采集前多采用重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)进行动员^[1-2],但对 PBSC 采集前未采用 rhG-CSF 动员(简称“未动员”)的相关研究国内外报道甚少。本研究对 112 例未动员的健康供者采集其 PBSC 进行研究,比较分析男女两组供者采集前血常规指标及采集物指标,并将采集效果与部分影响因素进行相关分析,为进一步提高未动员供员 PBSC 的采集效果提供相关理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院的健康 PBSC 供者共 112 例为研究对象,其中男 59 例,女 53 例。所有入组供者采集前均未应用 rhG-CSF 进行动员,所有供者均为自愿捐献,通过体格检查筛除感染性疾病、慢性系统性疾病及其他不适于捐献情况的人员,合格供者均签署知情同意书。所有入组供者采集前均检测白细胞(WBC)计数、体质量指数(BMI)、血细胞比容(Hct)、血小板(PLT)计数、血红蛋白(Hb)、单个核细胞(MNC)计数等血常规指标。

1.2 方法

1.2.1 采集方法 所有研究对象采集的目标细胞为 MNC,多用于嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)疗法,每份 PBSC 所采集的 MNC 计数目标阈值为 $>1 \times 10^9/L$,每袋终产品量为 40~60 mL。均使用 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)进行采集。以血液保存液(ACD,上海输血技术有限公司)为抗凝剂。输入采集者性别、身高、体质量、外周血 Hct,按 PBSC 程序单采,每次循环总血量 2 000~6 000 mL,全血与抗凝剂比例为 12 : 1,采集速度为 20~50 mL/min,采集时

间 90~180 min。所有入组的采集者术前均口服 10%葡萄糖酸钙 50 mL,以防枸橼酸钠中毒。

1.2.2 检测方法 取混匀后的少许 PBSC 采集物悬液采用 XS-800i 全自动血细胞分析仪(日本 Sysmex 公司)进行 WBC 计数,瑞氏染色显微镜下行 MNC 分类,采用 FC-500 流式细胞仪(美国 Beckman coulter 公司)进行 CD34⁺计数。MNC、WBC、CD34⁺计数的检测均由专人负责。

1.2.3 采集物分析 分析年龄、BMI、采集前血常规指标、采集循环血容量、处理血量及循环次数等因素对男女两组供者所采集获得的 MNC 计数、CD34⁺计数的影响;比较分析入组的男女两组供者采集前血常规指标及采集过程、采集物等指标。MNC 百分比、WBC 计数以及采集血量的乘积即为 MNC 计数。CD34⁺百分比、WBC 计数以及采集血量的乘积即为 CD34⁺计数。

1.3 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,两组间比较采用独立样本 *t* 检验。多因素分析采用多元线性回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 采集效果 采集的 112 份 PBSC 的 MNC 百分比为 42.11%±18.47%,CD34⁺百分比为 0.945%±0.760%,WBC 计数为 $(89.94 \pm 28.27) \times 10^9/L$,MNC 计数为 $(1.57 \pm 0.82) \times 10^9/L$,CD34⁺计数为 $(3.40 \pm 2.76) \times 10^7/L$ 。

2.2 不同性别采集前指标、采集物参数比较 男性组年龄,BMI,采集前 WBC 计数、Hct、Hb,总循环血量高于女性组($P < 0.05$),而采集处理血量、采集物中 MNC 计数低于女性组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组采集前 PLT 计数、MNC 百分比、MNC 计数以及采集产品量、采集循环数、采集物中 CD34⁺计数和 WBC 计数差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1、2。

表 1 两组采集前血常规及相关参数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄 (岁)	WBC 计数 ($\times 10^9/L$)	Hb (g/L)	Hct (%)	PLT 计数 ($\times 10^9/L$)	MNC 计数 ($\times 10^9/L$)	MNC 百分比(%)	BMI (kg/m ²)
男性组	59	31.68±7.98	6.82±1.31	160.15±9.01	46.63±2.55	230.86±42.84	2.63±0.67	38.60±7.28	24.26±2.67
女性组	53	26.87±3.72	5.59±0.93	134.96±8.00	39.92±2.51	245.87±40.79	2.32±0.55	39.19±7.58	21.21±2.26
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

表 2 两组 PBSC 采集过程中、采集物中相关指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	采集产品量 (mL)	总循环血量 (mL)	采集处理血量 (mL)	采集循环数 (个)	MNC 计数 ($\times 10^9/L$)	CD34 ⁺ 计数 ($\times 10^7/L$)	WBC 计数 ($\times 10^9/L$)
男性组	59	41.63±4.76	5 169.02±444.88	2 015.98±259.19	8.53±0.95	1.47±0.79	3.72±2.93	93.46±31.97
女性组	53	42.60±9.32	3 671.04±323.68	2 233.36±249.49	8.25±0.53	1.79±0.83	3.06±2.52	86.02±23.16
<i>P</i>		>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05

2.3 影响采集效果的多元回归分析 分别对男女两组供者的年龄、BMI、采集前血常规指标以及采集循环数、循环血量等因素与采集物 MNC、CD34⁺计数的影响因素进行分析。结果显示,在男性组中,采集物中 MNC 计数的影响因素为采集循环数($P=0.018$),采集物中 CD34⁺计数的影响因素为采集前 PLT 计数($P=0.048$),见表 3、4。女性组年龄、采集前 PLT 计数、WBC 计数、MNC 百分比、MNC 计数是采集物中 MNC 计数的影响因素($P<0.05$),采集前 Hct、PLT 计数及采集处理血量是采集物中 CD34⁺计数的影响因素($P<0.05$),见表 5、6。

表 3 影响男性采集物中 MNC 计数的多元线性回归分析					
因素	β	S.E.	Wald	P	95%CI
BMI	-1.346	0.716	3.536	0.066	-2.788~0.096
年龄	0.016	0.017	0.985	0.326	-0.017~0.050
采集前 Hct	0.017	0.063	0.076	0.784	-0.109~0.144
采集前 PLT 计数	<0.001	0.002	0.127	0.722	-0.004~0.006
采集前 WBC 计数	0.193	0.116	2.749	0.104	-0.041~0.428
采集前 Hb	-0.022	0.019	1.389	0.245	-0.061~0.016
采集前 MNC 百分比	<0.001	0.021	<0.001	0.990	-0.042~0.042
采集前 MNC 计数	0.225	0.256	0.772	0.384	-0.291~0.741
总循环血量	<0.001	0.001	0.009	0.923	-0.002~0.003
采集处理血量	-0.001	0.001	2.019	0.162	-0.003~0.000
采集循环数	0.525	0.214	5.992	0.018	0.093~0.958

表 4 影响男性采集物中 CD34 ⁺ 计数的多元线性回归分析					
因素	β	S.E.	Wald	P	95%CI
BMI	1.154	3.016	0.146	0.704	-4.920~7.228
年龄	-0.041	0.070	0.340	0.563	-0.182~0.100
采集前 Hct	0.146	0.266	0.304	0.584	-0.389~0.682
采集前 PLT 计数	-0.019	0.011	3.165	0.048	-0.042~-0.002
采集前 WBC 计数	0.383	0.491	0.610	0.439	-0.605~1.371
采集前 Hb	-0.037	0.080	0.209	0.650	-0.199~0.125
采集前 MNC 百分比	-0.124	0.088	1.985	0.166	-0.301~0.052
采集前 MNC 计数	1.524	1.079	1.994	0.165	-0.649~3.697
总循环血量	0.002	0.005	0.191	0.664	-0.008~0.013
采集处理血量	-0.002	0.003	0.301	0.586	-0.008~0.005
采集循环数	0.763	0.904	0.712	0.403	-1.057~2.583

表 5 影响女性采集物中 MNC 计数的多元线性回归分析					
因素	β	S.E.	Wald	P	95%CI
BMI	0.223	0.505	0.195	0.661	-0.798~1.244
年龄	0.069	0.025	7.788	0.008	0.019~0.119
采集前 Hct	0.107	0.101	1.124	0.295	-0.097~0.311
采集前 PLT 计数	0.007	0.002	10.101	0.003	0.003~0.012
采集前 WBC 计数	1.039	0.240	18.767	<0.001	0.554~1.525

续表 5 影响女性采集物中 MNC 计数的多元线性回归分析					
因素	β	S.E.	Wald	P	95%CI
采集前 Hb	-0.027	0.026	1.073	0.307	-0.080~0.026
采集前 MNC 百分比	0.073	0.024	8.886	0.005	0.023~0.123
采集前 MNC 计数	-1.381	0.537	6.606	0.014	-2.468~-0.294
总循环血量	-0.002	0.001	2.334	0.135	-0.004~0.001
采集处理血量	-0.001	0.001	1.691	0.201	-0.002~0.000
采集循环数	0.164	0.229	0.511	0.479	-0.627~0.299

表 6 影响女性采集物中 CD34 ⁺ 计数的多元线性回归分析					
因素	β	S.E.	Wald	P	95%CI
BMI	-2.048	2.141	0.915	0.344	-6.378~2.281
年龄	0.145	0.105	1.904	0.175	-0.067~0.356
采集前 Hct	1.187	0.428	7.681	0.008	0.320~2.053
采集前 PLT 计数	-0.043	0.009	20.932	<0.001	-0.062~-0.024
采集前 WBC 计数	-0.448	1.017	0.194	0.661	-2.506~1.609
采集前 Hb	-0.194	0.111	3.057	0.088	-0.417~0.030
采集前 MNC 百分比	0.099	0.104	0.904	0.347	-0.111~0.309
采集前 MNC 计数	1.003	2.278	0.194	0.662	-3.604~5.611
总循环血量	-0.007	0.005	1.991	0.166	-0.017~0.003
采集处理血量	0.004	0.003	2.842	0.049	-0.001~-0.010
采集循环数	1.360	0.971	1.961	0.169	-0.604~3.323

3 讨 论

PBSC 采集被广泛应用于临床治疗主要是由于采集者无须麻醉,失血和创伤性小,然而影响 PBSC 采集数量和质量的因素较多,目前对于采用 rhG-CSF 动员的 PBSC 采集效果和影响因素研究较多^[3]。从理论上讲,采用 rhG-CSF 进行动员的 PBSC 采集效果比未动员的 PBSC 采集效果要好,但动员的费用较高且存在采集者用药期间出现不同程度全身不适症状如发热、肌肉和骨骼酸痛等问题^[4],因此容易遭到采集者拒绝。

本研究纳入的 112 例健康供者采集前均未采用 rhG-CSF 进行动员,PBSC 采集物中 WBC 计数、MNC 计数、CD34⁺计数以及 MNC、CD34⁺百分比水平分别为 $(89.94 \pm 28.27) \times 10^9/L$ 、 $(1.57 \pm 0.82) \times 10^9/L$ 、 $(3.40 \pm 2.76) \times 10^7/L$ 、 $42.11\% \pm 18.47\%$ 、 $0.945\% \pm 0.760\%$,显示未动员的供者其外周血中存在能够安全采集到所要求的 MNC 目标数量,同时也显示采集到一定数量的 CD34⁺细胞。

如何对供者采集到质量更高、数量更多的 MNC 及 CD34⁺细胞是 PBSC 应用于临床治疗成功的关键^[5]。本研究对男女两组健康供者进行比较分析,结果显示,男性组年龄,BMI,采集前 Hct、Hb、WBC 计数,总循环血量均高于女性组,差异有统计学意义($P<0.05$),而男性组采集处理血量、采集物中 MNC

计数低于女性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组采集前 PLT 计数、MNC 百分比以及采集产品量、采集循环数、采集物中 CD34⁺ 计数、MNC 计数和 WBC 计数比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示入组的男女性供者年龄、体质量、身高存在一定差异,采集前 Hct、Hb、WBC 计数等指标也存在差异,均表现为男性高于女性,这可能与男性体表面积大,与之相应的外周血 Hct、Hb、WBC 计数也较高。本研究还发现,即使男女两组的采集产品量、采集循环数差异无统计学意义($P > 0.05$),男性组采集的总循环血量却高于女性组,而采集处理血量、采集物中 MNC 计数却低于女性组,提示供者因年龄、性别、采集处理血量等不同可致采集效果不一致,这与张淑遐等^[6]报道结果不符,其原因可能是与采集前是否采用 rhG-CSF 动员有关。本研究结果显示,男女两组采集物中 CD34⁺ 计数差异无统计学意义($P > 0.05$),与张曦等^[7]报道结果一致。有关年龄、性别不同是否可导致采集物中的 MNC 计数、循环血量、采集处理血量等变化不一致,还有待进一步大样本研究。

有学者认为,采集物中 MNC 及 CD34⁺ 计数是判断 PBSC 采集效果的重要指标^[8],而采集效果受多种因素影响,有关采集前外周血常规指标、采集处理血量对未动员供者 PBSC 采集效果影响的研究国内外报道甚少。本研究分别对男女两组采集物中 MNC、CD34⁺ 计数的影响因素进行分析。结果显示,女性组年龄、采集前 PLT 计数、WBC 计数、MNC 百分比、MNC 计数是采集物中 MNC 计数的影响因素($P < 0.05$),即年龄、PLT 计数、WBC 计数、MNC 百分比越高,所获得的 MNC 计数越高,与国内报道结果相似^[9]。由此可推测女性的年龄高低,PLT 计数、WBC 计数、MNC 百分比水平能反映骨髓造血情况,这为提前预测 PBSC 的采集效果,进行采集量的控制提供了一定的参考。本研究还发现,男女两组采集前 PLT 计数为采集物中 CD34⁺ 计数的影响因素($P < 0.05$, $\beta < 0$),即采集前 PLT 计数越高,所获的 CD34⁺ 计数越低。这结果与张淑遐等^[6]报道结果不一致,可能原因如下:(1)与采集前是否采用 rhG-CSF 动员有关;(2)PLT 比重接近干细胞,更容易被采集到干细胞成品中而影响采集效果;(3)PLT 计数增加使黏滞性和聚集性增加,直接影响探测器对细胞的识别^[10]。本研究还发现,女性组采集前 Hct 及采集处理血量是采集物中 CD34⁺ 计数的影响因素($P = 0.008, 0.049, \beta = 1.187, 0.004$),即 Hct 升高、采集处理血量越多,获得 CD34⁺ 计数越高。有研究显示,采集物中 CD34⁺ 计数还与采集产品量、总循环血量等有关^[8]。本研究采集

产品量、总循环血量均远低于 PBSC 移植所需要的产品量和循环血量^[1],因此所获采集物中 MNC、CD34⁺ 计数也远低于移植成功所需要的细胞数^[11]。

综上所述,应用血细胞分离机对未动员健康供者进行 PBSC 采集,不仅安全性、采集成功率较高,且能采集到满足临床 CAR-T 细胞疗法所需要的 MNC 阈值,以及一定数量的 CD34⁺ 细胞。健康供者不同年龄、性别、总循环血量等可致采集效果不一致;采集前血常规中 PLT 计数有助于预测 PBSC 采集效果,其成本低、操作简单方便,具有一定的临床意义。

参考文献

- [1] 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.
- [2] HOPMAN K, DIPERSIO F. Advances in stem cell mobilization[J]. Blood Rev, 2014, 28(1): 31-40.
- [3] KURNAZ F, KAYNAR L. Peripheral blood stem cell mobilization failure[J]. Transfus Apher Sci, 2015, 53(1): 31-40.
- [4] 宫立众,沈建良,黄友章,等. 无关供者 24 例外周血干细胞动员和采集[J]. 中国临床保健杂志, 2011, 14(5): 484-486.
- [5] HORWITZ S M, ZELENETZ A D, GORDON L I, et al. NCCN Guidelines Insights: Non-Hodgkin's Lymphomas, Version 3.2.016[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2016, 14(9): 1067-1069.
- [6] 张淑遐,任金华,元小红,等. 健康供者骨髓造血干细胞采集效果分析[J]. 中外医疗, 2016, 34(12): 34-36.
- [7] 张曦,李忠俊,陈幸华,等. 健康供者骨髓造血干细胞采集效果分析[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(12): 1010-1013.
- [8] 陆华,谭海明,黄姗,等. 常见血常规指标与外周血造血干细胞采集效率的相关性分析[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(7): 642-644.
- [9] 熊艺颖,刘林,唐晓琼,等. 48 例非霍奇金淋巴瘤患者自体外周造血干细胞动员采集的影响因素分析[J]. 重庆医学, 2017, 46(24): 3328-3331.
- [10] 白雯,王黎明,周建军,等. 血细胞分离机采集外周造血干细胞的相关影响因素分析[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(1): 77-78.
- [11] DUONG K, SAVANI N, COPELAN E D, et al. Peripheral blood progenitor cell mobilization for autologous and allogeneic hematopoietic cell transplantation: guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2014, 20(9): 1262-1273.

(收稿日期:2019-08-10 修回日期:2019-12-22)