

儿童外周血造血干细胞采集

邓春江 闫安文 齐聪燕(解放军 307 医院,北京 100039)

摘要:目的 探索儿童外周血干细胞(PBSC)的采集,特别是体重 $<20\text{kg}$ 的小儿外周血干细胞采集方法。方法 18 例儿童,共 31 次采集 PBSC。①年龄小,血管细和不能很好地配合的儿童患者,在 PBSC 采集的前 1d,根据患者的情况,选择性行锁骨下静脉、股静脉或颈内静脉穿刺,插入一儿童型双腔管(18~36cm);②采集儿童 PBSC 时,使用 SVSC 分离槽和 SVCC 收集槽,体重 $<20\text{kg}$ 的小儿,在初始化完成后,使用经射线照射过的血液预先运转分离机,使儿童体内的血液保持平衡;③在分离过程中,ACD/全血的比例保持在 1:11~1:13 之间;④成人的 PBSC 采集一般循环量为 10000~15000ml,儿童为全身血容量的 2~3 倍,每次处理血液总量为 4800~10000ml。**结果** 除 2 例采集 3 次外,其余的经 1~2 次 PBSC 采集,均收集到足够的 MNC 和 CD_{34} 细胞,达到外周血干细胞移植的阈值要求。**结论** 使用本方法能很好地采集儿童外周血造血干细胞。

关键词: 儿童 外周血造血干细胞,采集/移植

中图分类号: R457 R733

文献标识码: A

文章编号: 1004-549X(2002)02-0010-03

儿童白血病,神经母细胞瘤、Ewings 肉瘤、非霍奇金淋巴瘤等,这些疾病常有骨髓受侵,因为骨盆受照射而引起骨髓造血不良,因而外周血干细胞移植(peripheral blood stem cell transplantation, PB SCT)是常用的治疗方法^[1]。在 PB SCT 的治疗中,采集足够数量的外周血干细胞(PBSC)是保证移植成功的重要一环,对于成人 PBSC 的采集,一般使用血细胞分离机可顺利完成。而儿童 PBSC 采集与成人有许多不同之处,特别是体重 $<20\text{kg}$ 的小儿,外周血干细胞采集更加困难,为此,笔者对儿童的 PBSC 采集进行了初步研究,探索出儿童 PBSC 采集的一些方法,效果良好。现将本院 1995 年以来对 18 名 15 岁以下儿童患者及供者进行 PBSC 采集的方法,报道如下。

1 材料与方法

1.1 病例 共 18 例,男 11 例,女 7 例,中位年龄 12.5 岁(6~15)岁。其中急性淋巴细胞性白血病(ALL) 2 例,霍奇金淋巴瘤(HL) 3 例,非霍奇金淋巴瘤(NHL) 7 例,慢性粒细胞性白血病(CML) 1 例, PBSC 供者 5 例。

1.2 仪器 CS-3000 Plus 血细胞分离机(Baxter 公司),使用普通分离槽(GRANULO)和小体积收集槽

(SVCC)的 17 例,使用小体积分离槽(SVSC)和 SVCC 收集槽的 1 例。

1.3 方法

1.3.1 PBSC 动员 自体外周血干细胞移植(Auto-PB SCT)采用化疗和 G-CSF 或/及 GM-CSF 动员,供者直接采用 G-CSF 或/及 GM-CSF 动员,见表 1。

表 1 外周血干细胞动员情况

组别	n	动员剂	WBC($\times 10^9/\text{L}$)	HCT(%)
ALL	2	G-CSF	10.2~12.8	0.30~0.35
HL	3	G-CSF	9.9	0.345
NHL	7	G-CSF 或 G/GM-CSF	3.2~15.7	0.265~0.36
CML	1	G-/GM-CSF	11.0	0.33
供者	5	G-CSF	14.8~31.7	0.36~0.42

1.3.2 PBSC 采集 PBSC 动员后 d 4~d6 采集 PBSC。按常规方法安装分离管道和初始化,使用 GRANULO 分离槽和 SVCC 收集槽,选择外周血单核细胞收集程序 8,全血流速视患者血管情况设定,一般为(50~60)ml/min;对于体重轻的小儿,使用 SVSC 分离槽和 SVCC 收集槽,选择儿童外周血单核细胞收集程序(预设),初始化后,用经过 25Gy 的 γ 射线照射过的全血 200ml 或红细胞悬液 1 袋进行

运转。将分离管道的进血管路连接血袋,返血管路连接无菌塑料空袋,以接受由分离管道中排出的盐水,使其充满血液。当运转出现溢出(80-Spillover Steps In Progress)结束后恢复到正常运转时(89-Run In Progress),停止运转,调节全血流速至 25ml/min,设定全血终点量值为小儿全血容量的 2~3 倍,根据小儿的血液检测 Hct 和有核细胞数据设定运转参数中的 68、71 位置的参数。再分别将采血针刺穿小儿血管或连接静脉插管,进行 PBSC 采集,在第一次出现溢出(80-Spillover Steps In Progress)结束,出现 89 状态(89-Run In Progress)或 87 状态(Plasma Collect)时,设定界面探测值基线(IDB)。收集单个核细胞悬液 50ml。本组中使用 GRANULO 分离槽和 SVCC 收集槽,体重在 30kg 以下的 4 例,使用 SVSC 分离槽和 SVCC 收集槽,体重在 20kg 以下的 1 例,共 11 次使用经照射的血液预先运转。

1.3.3 静脉导管的使用 对年龄小、多次化疗、静脉穿刺困难者作静脉插管,以保证 PBSC 分离顺利进行。本组病例中行股静脉穿刺留置双腔管的 4 例,颈静脉穿刺留置双腔管的 2 例,双正中静脉或贵要静脉用静脉留置针穿刺的 5 例,一侧正中静脉穿刺(进血管路),一侧小隐静脉穿刺(返血管路)用静脉留置穿刺针穿刺的 2 例,常规穿刺的 5 例。每次分离后用肝素溶液封管,以保证导管通畅,次日分离连接管道前,用空针抽出导管内肝素液,确认血管通畅后,再分别连接分离管道的进血管路和返血管路,进行 PBSC 分离。

1.3.4 ACD/全血的比率 儿童对抗凝剂较为敏感,易发生枸橼酸钠中毒,在分离过程中应严格控制 ACD/全血的比率在 1:10~1:13。采集过程中密切观察儿童的神志及有无恶心、口周麻木、抽搐等枸橼酸钠中毒现象,一旦发生不良反应要及时处理。采集前 2d~3d 口服钙尔奇 1 片,(1~2)次/d 或在采集中静脉推注 10% 葡萄糖酸钙 1 支以预防枸橼酸钠中毒。

2 结果

2.1 PBSC 采集效率见表 2。

2.2 PBSC 植入情况 患者经大剂量化疗预处理后行外周血造血干细胞移植,均取得造血重建,白细胞 $>0.5 \times 10^9/L$ 的时间为 d11~d15; $>2.0 \times 10^9/L$ 的时间为 d13~d22;血小板 $>20.0 \times 10^9/L$ 的时间为 d11~d14; $>50.0 \times 10^9/L$ 的时间为 d13~d26。

表 2 各组 PBSC 采集效率

组别	n	分离次数	MNC($\times 10^8/kg$)	CD34 ⁺ ($\times 10^6/kg$)
ALL	2	2	3.85~4.6	7.83~19.2
HL	3	1	6.52	15.2
NHL	3	1		
	3	2	3.44~4.29	7.19~25.7
	1	3		
CML	1	1	2.25	19.2
供者	4	2	3.83~7.02	6.8~12.8
	1	3		

3 讨论

PBSC 治疗恶性血液病和部分实体瘤,操作相对简单,无需麻醉,其造血及免疫功能恢复快,临床使用日益广泛。同时由于 PBSC 采集的经验积累和水平的不断提高,儿童 PBSC 采集的年龄也越来越小。但由于儿童 PBSC 采集与成人有许多不同之处,特别是体重 $<20kg$ 的小儿, PBSC 采集更加困难,如何安全有效地保证儿童 PBSC 采集,从而获得更多的造血干/祖细胞,是大剂量化疗、放疗后用 PBSC 支持治疗的重要因素。本组 18 例儿童,共 31 次采集 PBSC,安全、有效,使 PBSC 取得较好的造血功能重建。

3.1 导管使用的必要性 使用血细胞分离机进行 PBSC 分离时,血液流速达 (50~70)ml/min,以保证分离过程的顺利进行和采集较多的 PBSC,但对于一些肿瘤患者因多次化疗而血管受损严重,有报导认为 60% 的作 Auto-PBSC 的患者找不到合适的血管进行多次重复穿刺^[1]。特别是儿童患者,年龄小,血管细和不能很好地配合,反复穿刺更加困难。因而放置合适的导管是非常必要的。在 PBSC 采集的前一天,根据患者的情况,选择性行锁骨下静脉、股静脉或颈内静脉穿刺,插入一儿童型双腔管 (18~36cm),为 PBSC 采集创造有利条件。每次分离后,用肝素溶液封管,保证导管通畅,次日分离时应将导管内肝素抽出,确认血管通畅后,再连接分离管道,行 PBSC 采集。本组行大静脉穿刺 6 例(33%),静脉留置针穿刺 7 例(39%),减少了患者的痛苦,保证了 PBSC 采集的顺利进行。

3.2 用血液预先运转的重要性 儿童全身血容量为 75ml/kg 体重,而 CS-3000 Plus 血细胞分离机体外血量为 200ml 左右,因此体重在 20kg 以下的儿童,体外血量大于全身血量的 10%~15%,可能出

现低血容量综合征, 另一方面由于体外循环的是全血, 而还输的是生理盐水, 使体内 Hct 发生变化, 从而影响 PBSC 采集效果。为此, 笔者采集儿童 PBSC 时, 使用 SVSC 分离槽和 SVCC 收集槽, 以减少体外血循环量, 同时, 在初始化完成后, 使用经射线照射过的血液预先运转分离机, 使儿童体内的血液保持平衡, Hct 没有明显变化; 对于贫血儿童, Hct 在 30% 以下者, 采集 PBSC 前输注适当红细胞悬液, 将 Hct 提高到 30% 以上, 这样既保证了儿童的安全, 又保障了 PBSC 采集的质量。

3.3 注意 ACD 与全血的比例 儿童处于生长期, 往往由于钙补充不足, 血钙偏低, 易发生 ACD 中毒。在分离过程中, ACD/全血的比例保持在 1:11~1:13 之间, 对特别小的儿童, 可以先用肝素 50U/kg 静滴, 以后 20U/kg⁻¹·h⁻¹, 这样 ACD/全血流速之比降到 1:20~1:26 以减少枸橼酸的输入量^[1]。当发生枸橼酸钠中毒时, 表现为口周发麻感、恶心、腹部不适、面部苍白、心率下降等, 应注意观察, 早期发现, 及时处理。预防性服用钙剂是防止 ACD 中毒的有效方法。

3.4 关于处理血液总循环量 采集 PBSC 的成品中 CD₃₄⁺细胞的多少与单采的总容量有一定的相关性^[2], 与年龄也有密切关系^[3]。成人的 PBSC 采集一般循环量为 10000~15000ml, 儿童为全身血容量的 2~3 倍, 每次处理血液总量在 4800~10000ml。本组除 2 例采集 3 次外, 其余的经 1~2 次 PBSC 采集, 均收集到足够的 MNC 和 CD₃₄⁺细胞, 达到外周血干祖细胞移植的阈值要求。

参 考 文 献

- 1 曹履先主编. 临床骨髓移植, 北京: 军事医学科学出版社, 1999, 175~176
- 2 Smolowicz AG, Villman K, Tidefeiti U, et al. Large-volume apheresis for the harvest of peripheral blood progenitor cells for autologous transplantation. Transfusion, 1997, 37(2): 188
- 3 Dreger P, Spanakis E. G-CSF-mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: safety, kinetics of mobilization, and composition of the graft. Haematol, 1994, 87: 609

(2001-01-08 收稿, 10-24 修回)

本文编辑: 闻 欣