

## • 实验研究 •

## 外周血造血干细胞采集方法的选择与分析

周俊<sup>1</sup> 冯谦<sup>2</sup> 张秀<sup>1</sup> 王华<sup>1</sup> (1. 北京军区总医院 输血科 北京 100700; 2. 北京军区联勤部 卫生处)

**摘要:**目的 以 Cobe Spectra 细胞分离系统为基础,为外周血造血干细胞的采集选择效率高、经济、运行时间短,更切合临床实际工作的方法提供客观依据。方法 分别用 Cobe Spectra 细胞分离系统的 Auto PBSC(外周血干细胞自动采集)方法和 MNC(单个核细胞采集)方法采集外周血干细胞,对采集产品的进行细胞计数,记录采集过程参数,计算有核细胞、单个核细胞采集数和采集时间,分析采集效率以及经济成本。应用统计学分析方法,对这 2 种不同方法进行比较分析。结果 1) 2 组间处理血量差异没有统计学意义,Auto PBSC 采集组的采集产品中有核细胞数浓度和单个核细胞百分比高于 MNC 采集组,但产品体积小于 MNC 采集组( $T = -1.704$ ,  $P = 0.494$ ,  $1.941$ ,  $1.742$ ,  $P > 0.05$ ); 2) MNC 采集组获得的产品中有核细胞总数、单个核细胞数及 CD34<sup>+</sup> 细胞浓度均显著高于 Auto PBSC 采集组,采集所用的时间差异无统计学意义( $T = -3.596$ ,  $-0.349$ ,  $13.188$ ,  $-2.554$ ,  $-2.818$ ,  $P < 0.05$ ); 3) MNC 采集组的有核细胞采集率(22%)和单个核细胞的采集率(97.7%)也高于 Auto PBSC 采集组的 15% 和 85% ( $T = 5.575$ ,  $4.572$ ,  $4.384$ ,  $2.926$ ,  $-0.044$ ,  $3.229$ ,  $P < 0.05$ )。结论 MNC 采集外周血干细胞的采集效率优于 Auto PBSC 采集,并且经济。

关键词: 外周血干细胞; 干细胞; 采集; 单个核细胞

中图分类号: R457.1 R329.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-549X(2011)09-0770-02

异基因外周血造血干细胞移植是治疗多种血液病和实体瘤的有效方法。随着医疗技术的发展,外周血造血干细胞移植从供者与受者 HLA 配型全相合移植发展到半相合移植。从父母、子女、兄弟姐妹中为受者找到 HLA 半相合供者的机率远远大于 HLA 全相合的无关供者,为进行造血干细胞移植的患者提供了便于实施的治疗方法。采集外周血干细胞的技术得以推广和发展,为确保移植治疗的顺利开展,对外周血造血干细胞的采集技术有了更高的要求。应用 Cobe Spectra 血细胞分离系统的自动外周血干细胞采集(Auto PBSC)方法和单个核细胞采集(MNC)方法都可以采集外周血中的干细胞。2 种方法使用的一次性耗材价格有差异,采集所需时间也不同,为提高外周血造血干细胞采集工作效率,对这 2 种采集方法进行了比较分析,现报道如下。

## 1 对象与方法

1.1 对象 2007 年 1 月~2009 年 12 月在本院输血科进行

外周血干细胞采集的健康造血干细胞供者,Auto PBSC 程序采集 35 例, MNC 程序采集 52 例。共 87 例,均为亲缘性供者,其中女 44 例,男 43 例,年龄 13~56 岁。在外周血干细胞采集前,供者均知情并签有“自愿捐献造血干细胞同意书”。

**1.2 仪器与试剂** COBE Spectra 6.1 血液成分分离系统,一次性自动外周血干细胞采集管路,一次性白细胞去除管路和 COBE Spectra WBC Colorgram(比色卡)TM(Caridian BCT); ACD-A 抗凝剂(600 ml,博得桑特输血器材有限公司),血液细胞分析仪(BC-3000,迈瑞)。

## 1.3 方法

**1.3.1 采集前动员** 采集前 5 d 皮下注射粒细胞集落刺激因子,剂量 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,1 次/d。d 5 供者外周血白细胞计数达  $20 \times 10^9/\text{L}$  以上即可采集。

**1.3.2 采集前准备** 评估供者肘静脉的条件,一般采用双侧肘静脉穿刺,血管条件不好者,在腹股沟或锁骨下行深静脉穿刺放置双腔导管,以保证干细胞采集过程的血流速度。

**1.3.3 采集方法** 1) Auto PBSC 采集 采用 Auto PBSC 专用一次性管路,输入供者信息包括性别、身高、体重、外周血红细胞压积( Hct)、白细胞计数( WBC) 及单个核细胞百分比( 淋巴细胞+单核细胞); 2) MNC 采集 采用一次性去除白细胞管路,输入供者信息包括性别、身高、体重、外周血红细胞压积( Hct)、白细胞计数( WBC)。确认操作后进行外周血干细胞的采集。

**1.3.4 检测指标** 1) 采集前供者外周血细胞计数; 2) 记录采集过程相关参数 血液流速、处理血量、运行时间和采集产品的体积; 3) 采集结束后 采集产品的细胞计数。

**1.3.5 效率评价指标** 细胞采集率= ( 产品中细胞数/体内细胞数) ×100%

**1.4 统计学分析** 采用 *T* 检验, *P* < 0. 05 为差异有统计学意义。

2 结果

表 1 2 组供者的主要指标比较 ( *x* ± *s*)

	<i>n</i>	性别		年龄( 岁)	血容量( ml)	采集前外周血	
		男	女			WBC( ×10 <sup>6</sup> /ml)	单个核细胞( %)
Auto PBSC	35	18	17	32. 2 ± 10. 3	4 039. 0 ± 659. 6	37. 57 ± 7. 65	16. 88 ± 3. 19
MNC	52	25	27	35. 2 ± 13. 5	4 165. 1 ± 1 008. 6*	42. 65 ± 13. 22*	18. 78 ± 5. 80*

\* *T* 分别为 -1. 704 0. 494 1. 941 1. 742 均为 *P* > 0. 05

表 2 2 组采集参数和产品的比较 ( *x* ± *s*)

	<i>n</i>	采血流速( ml/min)	处理血量( ml)	采集产品体积( ml)	采集产品	
					有核细胞( ×10 <sup>6</sup> /ml)	单个核细胞( %)
Auto PBSC	35	55. 5 ± 10. 4	10 258. 9 ± 1 411. 8	82. 17 ± 18. 62	264. 6 ± 95. 7	93. 6 ± 13. 2
MNC	52	48. 8 ± 7. 1*	9 808. 2 ± 1 691. 6	182. 3 ± 41. 0*	199. 4 ± 70. 5*	83. 1 ± 12. 8*

\* *T* 分别为 -3. 596, -0. 349 13. 188, -2. 554, -2. 818 均为 *P* < 0. 05

表 3 2 组采集效果比较 ( *x* ± *s*)

	有核细胞		单个核细胞		运行时间( min)	CD34 <sup>+</sup>	
	总数( ×10 <sup>10</sup> )	采集率( %)	总数( ×10 <sup>10</sup> )	采集率( %)		<i>n</i>	检测率( %)
Auto PBSC	2. 2 ± 1. 0	15. 0 ± 6. 2	2. 1 ± 1. 0	85. 0 ± 38. 5	213. 1 ± 30. 1	5	0. 28 ± 0. 10
MNC	3. 6 ± 1. 3*	22. 0 ± 9. 0*	2. 9 ± 1. 1*	97. 7 ± 30. 9*	198. 58 ± 32. 29	13	0. 58 ± 0. 19*

\* *T* 分别为 5. 575 4. 572 4. 384 2. 926, -0. 044 0 3. 229 均为 *P* < 0. 05

3 讨论

Cobe Spectra 血细胞分离系统分离血液成分功能较全面,用以采集分离骨髓干细胞<sup>[1]</sup>和外周血干细胞。在采集外周血干细胞时,可以采用 2 种程序,即自动外周血干细胞采集程序( Auto PBSC) 和单个核细胞采集程序( MNC)<sup>[2]</sup>,哪一种程序更适合临床的治疗工作,如何进行选择,未见有相关报道。我们对 Auto PBSC 采集组和 MNC 采集组的供者进行统计分析,确定来自同一整体,因此采集过程和采集结果具有可比性。通过对这 2 种干细胞采集过程的参数及采集结果的分析,发现 Auto PBSC 采集的产品单个核细胞纯度较高( 高于 MNC 采集组),与设备性能一致。但 MNC 采集外周血干细胞获得的产品体积大于 Auto PBSC 采集组,有核细胞浓度、单个核细胞百分比虽然较后者低,但最终获得的有核细胞总数和单个核细胞数仍高于 Auto PBSC 采集组。也就是说, MNC 采获得的有核细胞和单个核细胞的绝对数高于 Auto PBSC 采集,而 2 种方法所需的运行时间没有显著差别,因

**2.1 外周血干细胞供者比较** 采用 Auto PBSC 采集和 MNC 采集的 2 组干细胞供者在性别构成、年龄分布、血容量、采集前外周血 WBC、单个核细胞百分比等方面没有显著性差异( 表 1)。

**2.2 采集质量** Auto PBSC 采集组和 MNC 采集组采集过程的参数和采集产品的细胞计数结果见表 2。2 组间处理血量没有显著差异, Auto PBSC 采集组的采集产品中有核细胞数浓度和单个核细胞百分比显著高于 MNC 采集组,但产品体积显著小于 MNC 采集组。

**2.3 采集效率** MNC 采集组获得的产品中有核细胞总数、单个核细胞数及 CD34<sup>+</sup> 细胞浓度均显著高于 Auto PBSC 采集组,采集所用的时间无显著差异。而且 MNC 采集组的有核细胞和单个核细胞的采集率也显著高于 Auto PBSC 采集组( 表 3)。

此, MNC 采集方法可以采集更多的有核细胞和单个核细胞,采集效率高。另外, Auto PBSC 采集所需的一次性耗材较 MNC 采集所需耗材成本高出约 50%,在常规采集外周血干细胞时建议采用 MNC 采集。当然, Auto PBSC 一次性管路容积较小,所需预冲体积小,该方法对于儿童或体弱的供者更加安全<sup>[3]</sup>,所以对该人群建议使用 Auto PBSC 方法采集。

参 考 文 献

[1] 周俊,范丽霞,杜海燕,等. 骨髓单个核细胞采集技术研究及其临床应用. 中国输血杂志 2009 22( 4): 282-284.  
[2] 马曙轩,刘景汉,李锡金,等. 应用血细胞分离机采集 ABO 血型不合供者的外周血干细胞. 中国实验血液学杂志, 2005, 13 ( 3): 496-499.  
[3] 杜耀民,汪传喜. 低体重小儿外周血干细胞采集方法的探讨. 实用医学杂志 2002; 18 ( 2): 153-154.

( 2011-05-11 收稿 08-29 修回)

本文编辑: 闻欣