

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 CD34 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($\times 10^9/L$)	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

也具有一定的实用价值。

参考文献

1 叶应妩,王毓三.全国临床检验操作规程.南京:东南大学出版社,1991,91~93

2 李勇,杨贵贞.人类红细胞血型学实用理论与实验技术.北京:中国科学技术出版社,1999,25~263

3 武建国.实用临床免疫学检验.江苏科学技术出版社,1990,88~89

4 王钢.69 例 ABO 新生儿溶血病血清分析.中国小儿血液,1999,3,113

5 张益枝,储榆林,邵宗鸣.84 例自身免疫性溶血性贫血 IgG 抗体亚型与临床意义的分析.中华血液学杂志,1999,10,524

(2001-02-16 收稿,2002-01-04 修回)

本文编辑:闻欣

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

小儿白血病成分输血分析

马 廉¹ 林丽敏¹ 陈思红¹ 庄静文¹ 李 彤²

(1. 汕头大学医学院第二附属医院, 广东汕头 515041; 2. 汕头大学医学院第一附属医院)

摘要:目的 通过分析小儿白血病成分输血的实际情况及疗效来指导临床合理输血。方法 以《献血法》颁布实施前后分阶段统计 59 例白血病患儿的输血理由、输血的合理性、疗效及副作用。结果 1995 年~1997 年组成成分输血 53.8%, 不必要输血 4.4%, 输血成分不适当占 51.6%; 成分输血的疗效明显好于全血输注, 输血副反应主要见于全血输注。1998~2000 年组, 输全血仅 4 例次, 无不必要输血, 成分输血率 98.7%, 输血疗效明显提高。结论 对小儿白血病积极开展成分输血, 不仅节约血源, 而且疗效明显, 副作用少。

关键词: 白血病 输血 儿童

中图分类号: R457.1 R725.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-549X(2002)02-0103-03

为了解小儿白血病输血治疗中的成分输血情况, 指导合理用血, 笔者对 1995~2000 年住院输血治疗的 59 例白血病患儿的输血情况进行了统计分析, 发现自 1998 年《献血法》颁布实施后, 成分输血比例大大提高, 患儿疗效好于过去, 副作用发生率下降, 现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 病例分组 1995~1997 年收治的白血病患者 33 例(95 年组); 1998~2000 年收治的白血病患者 26

例(98 年组)。

1.2 输血治疗方案及疗效判断 ①贫血($Hb < 60g/L$); 输 RBC, ($5 \sim 10$)ml/kg·d, 输血后 Hb 上升 $> 20g/L$ 为有效, ② $Plt < 50 \times 10^9/L$ 伴严重出血或 $Plt < 20 \times 10^9/L$ 伴或不伴出血; 输 Plt, ($0.1 \sim 0.3$)U/kg·d, Plt 上升 $> 10 \times 10^9/L$ 为有效, 治疗出血以出血能否停止判断疗效; ③Hb 和 Plt 同时降低: 分别输 RBC 和 Plt; ④WBC 降低: 输粒细胞集落刺激因子(CSF)或静脉注射免疫球蛋白(IVIG), IVIG 为 $200mg/kg \cdot 次$, 以能否预防感染或能否控制感染来判断; CSF 为 ($3 \sim 6$)

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 $20U/kg \cdot h^{-1}$, 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 CD_{34}^{+} 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 CD_{34}^{+} 细胞, 达到外周血干祖细胞移植的阈值要求。

参 考 文 献

- 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
- Smolowicz AG, Villman K, Tidefeit U, et al. Large volume apheresis for the harvest of peripheral blood progenitor cells for autologous transplantation. Transfusion, 1997, 37(2): 188
- 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