

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.24.005

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*

熊艺颖, 刘林, 唐晓琼, 肖青, 张红宾, 王建渝, 王利[△]

(重庆医科大学附属第一医院血液内科 400016)

[摘要] **目的** 回顾性分析非霍奇金淋巴瘤患者自体外周造血干细胞动员采集过程中的影响因素。**方法** 2014 年 1 月至 2016 年 8 月, 共有 48 例非霍奇金淋巴瘤患者在该院血液科行自体外周造血干细胞动员采集, 对患者的年龄、性别、疾病分期、诊断时是否骨髓侵犯、化疗次数及病程中是否复发等因素进行回顾性分析。**结果** 37 例患者(77.10%)干细胞动员采集成功, 其成功率受疾病诊断到干细胞动员采集的间隔时间、化疗次数、前期化疗(包含氟达拉滨)、复发, 以及采集干细胞前的白细胞及血小板水平的影响。**结论** 拟行自体外周造血干细胞的非霍奇金淋巴瘤患者, 前期化疗次数不宜多, 动员采集要尽早, 尽量避免使用可能损伤干细胞的药物, 需同时关注患者外周血白细胞和血小板水平, 来确定动员采集时机。

[关键词] 淋巴瘤, 非霍奇金; 造血干细胞; 外周血干细胞移植; 因素分析, 统计学

[中图分类号] R457.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)24-3328-04

Analysis on influence factors of autologous peripheral blood stem cell mobilization and collection in 48 patients with non-Hodgkin's lymphoma*

Xiong Yiying, Liu Lin, Tang Xiaojiong, Xiao Qing, Zhang Hongbin, Wang Jianyu, Wang Li[△]

(Department of Hematology, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective** To retrospectively analyze the influence factors during autologous peripheral blood stem cell (PBSC) mobilization and collection process in the patients with non-Hodgkin's lymphoma (NHL). **Methods** Forty-eight patients with NHL in our hospital from January 2014 to August 2016 underwent PBPC mobilization and collection. The factors of age, sex, disease stage, bone marrow involvement at diagnosis, chemotherapy frequency, relapse and so on were analyzed retrospectively. **Results** PBSC mobilization and collection was successful in 37 cases (77.10%). The success rate was affected by the time from diagnosis to mobilization ($P=0.038$), chemotherapy courses ($P=0.016$), prior chemotherapy including fludarabine ($P=0.049$), relapse ($P=0.033$), and the levels of white blood cell ($P=0.014$) and platelet ($P<0.01$) before stem cells collection. **Conclusion** For the patients planning to receive autologous peripheral blood stem cell transplantation, many times of prior chemotherapy are unfavorable, mobilization and collection should be taken as early as possible, chemotherapeutic agents which possibly injure stem cells should be avoided, it is needed to simultaneously pay attention to peripheral blood WBC and platelet level for determining the collection timing.

[Key words] lymphoma, non-hodgkin; hematopoietic stem cells; peripheral blood stem cell transplantation; factor analysis, statistical

大剂量化疗联合造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)可以大幅度提高化学药物对肿瘤细胞的杀伤作用, 是某些非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)的标准治疗方案, 尤其针对高危、复发难治的 NHL^[1]。而 HSCT 中回输的干细胞数量是移植成功的关键因素。目前认为移植中 CD34⁺ 细胞数需大于或等于 $2 \times 10^6/\text{kg}$ ^[2-4]。已有研究报道, 淋巴瘤的亚型、早期化疗, 以及是否有骨髓侵犯均与外周造血干细胞(peripheral blood stem cell, PBSC)动员采集相关^[5-7]。本研究回顾性分析了年龄、性别、疾病分期、化疗次数和动员前疗效等因素对 NHL 患者自体 PBSC 动员采集效果的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 1 月至 2016 年 8 月在本院血液科行自体外周造血干细胞动员采集的 NHL 患者共 48 例。其中男 31 例, 女 17 例, 动员时的中位年龄 42 岁(18~62 岁)。原发基础疾病包括: 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 25 例, 淋巴瘤母细胞性淋巴瘤 5 例, 结外自然杀伤细胞(NK)/T 细胞淋巴瘤(鼻型)4 例,

间变性大细胞淋巴瘤 2 例, 血管免疫母细胞性 T 细胞淋巴瘤 1 例, 周围 T 细胞淋巴瘤 1 例, 边缘带淋巴瘤 4 例, 滤泡性淋巴瘤 3 例和套细胞淋巴瘤 3 例。48 例患者基础疾病诊断到采集的中位时间为 5.01 个月(2.20~38.47 个月), 均为初次动员采集, 并且所有患者动员前骨髓涂片及淋巴瘤微小残留检测均阴性。35 例患者在动员前处于完全缓解(CR)状态, 6 例处于部分缓解(PR), 以及 7 例处于疾病进展(PD)。

1.2 方法

1.2.1 PBSCs 动员采集 所有患者均采用化疗与生长因子联合动员方案, 化疗以 MOED(米托蒽醌 $8 \text{ mg}/\text{m}^2$, 第 1~3 天; 长春地辛 4 mg , 第 1 天; 依托泊苷 $75 \text{ mg}/\text{m}^2$, 第 1~5 天; 地塞米松 $6 \text{ mg}/\text{m}^2$, 第 1~5 天)为基础, 部分联合美罗华、甲氨蝶呤。在每位患者化疗后白细胞下降至低谷并开始回升时给予粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)(吉赛欣, 华北制药金坦生物技术股份有限公司) $8 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 动员, 在动员第 4 天至第 6 天中, 白细胞(WBC) $\geq 10 \times 10^9/\text{L}$ 时开始采集。若患者在动员第 6 天 WBC 仍未达上

述标准,直接终止干细胞采集。动态监测血象的变化,直到采集结束。采用血细胞分离机(COM. TEC,德国 Fresenius Kabi AG)的 PBSC 采集程序单采,循环血量为患者总血容量的 2.0~2.5 倍,一次动员采集时间为 2~3 d,采集的 CD34⁺ 细胞数总量用于分析。采集过程中会予以 10%葡萄糖酸钙预防枸橼酸钠中毒。

1.2.2 采集物的分析 PBSC 采集物立即人工计数单个核细胞(monocularenuclearcell, MNC),用流式细胞仪(Naviou,美国 Beckman Coulter)计数 CD34⁺ 细胞(单克隆抗体包括抗-CD34-PE、抗-CD45-PY5 及标记荧光素的同型对照);CD34⁺ 细胞检测采用标准化 ISHAGE 方案。计算采集物 CD34⁺ 细胞总数(CD34⁺ 细胞比例×采集物 WBC 总数)。大多数研究认为 CD34⁺ 细胞数大于或等于 2×10⁶/kg 是移植成功的阈值^[2,7]。故本研究中,干细胞采集物中 CD34⁺ 细胞数大于或等于 2×10⁶/kg 时视为动员采集成功,而动员 6 d WBC<10×10⁹/L 或者采集物中 CD34⁺ 细胞数小于 2×10⁶/kg 时视为动员采集失败。

1.3 统计学处理 所有数据应用 SPSS 22.0 统计软件(IBM,美国 Armonk)进行分析。两组计量资料比较采用两独立样本 *t* 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切检验(有 *T*<5 时)。两变量相关性分析选用 Spearman 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 动员采集成功率 48 例患者动员过程中,WBC 均在 6 天内上升至 10×10⁹/L 及以上,完成了采集过程。采集 MNC

中位值为 12.60×10⁸/kg[(3.03~24.16)×10⁸/kg],CD34⁺ 细胞数中位值为 7.26×10⁶/kg[(0.11~44.03)×10⁶/kg]。其中 37 例采集物中 CD34⁺ 细胞数大于或等于 2×10⁶/kg,成功率为 77.10%。根据患者 CD34⁺ 细胞数值,将患者分为成功组(37 例,占 77.10%)和失败组(11 例,占 22.90%)。

2.2 基本特征及临床特征比较 成功组男 22 例,女 15 例,年龄中位值 42 岁(18~62 岁),失败组男 9 例,女 2 例,年龄中位值 44 岁(21~60 岁),两组患者的年龄和性别差异无统计学意义(*P* 值分别为 0.630 和 0.284)。但两组间疾病分期(I~II 和 III~IV 期),骨髓侵犯与否,以及动员前疾病状态比较差异无统计学意义(表 1)。成功组和失败组:患者诊断到动员采集的中位时间分别为 4.73 个月(2.20~29.20 个月)和 6.53 个月(4.93~38.47 个月),差异有统计学意义(*P*=0.038);动员采集前化疗次数中位值分别为 4 次(2~10 次)和 5 次(4~15 次),前者化疗次数明显少于后者(*P*=0.016);成功组的患者前期均未接受含有氟达拉滨的方案化疗,而失败组有 2 例患者前期接受含氟达拉滨的方案化疗,这在两组间差异有统计学意义(*P*=0.049);两组分别有 1 例和 3 例患者在病程中曾经复发,差异有统计学意义(*P*=0.033)。成功组和失败组采集干细胞前的 WBC 中位值分别为 24.57×10⁹/L[(10.29~52.40)×10⁹/L]和 16.46×10⁹/L[(10.00~37.44)×10⁹/L],血小板的中位值分别为 193×10⁹/L [(38~424)×10⁹/L]和 89×10⁹/L[(37~132)×10⁹/L],前者均显著高于后者(*P* 值分别为 0.014、<0.01),但血红蛋白水平比较差异无统计学意义(*P*=0.848,表 1)。

表 1 患者临床特征比较

基本特征	成功组(<i>n</i> =37)	失败组(<i>n</i> =11)	<i>P</i>
疾病(<i>n</i>)			
弥漫性大 B 细胞淋巴瘤	22	3	—
淋巴瘤母细胞性淋巴瘤	3	2	—
结外 NK/T 细胞淋巴瘤(鼻型)	4	0	—
间变性大细胞淋巴瘤	0	2	—
血管免疫母细胞性 T 细胞淋巴瘤	0	1	—
外周 T 细胞淋巴瘤	1	0	—
边缘带淋巴瘤	2	2	—
滤泡性淋巴瘤	3	0	—
套细胞淋巴瘤	2	1	—
分期(<i>n</i>)			
I~II	4	1	1.000
III~IV	33	10	—
疾病状态(<i>n</i>)			
CR	26	9	0.733
PR	5	1	—
PD	6	1	—
骨髓侵犯(<i>n</i>)	8	4	0.430
曾经复发(<i>n</i>)	1	3	0.033
诊断到采集的时间[中位值(范围),月]	4.73(2.20~29.20)	6.53(4.93~38.47)	0.038
化疗次数[中位值(范围),次]	4(2~10)	5(4~15)	0.016
氟达拉滨化疗(<i>n</i>)	0	2	0.049
采集前			
WBC 中位值(×10 ⁹ /L)	24.57(12.29~52.40)	16.46(10.00~37.44)	0.014

续表 1 患者临床特征比较

基本特征	成功组(<i>n</i> =37)	失败组(<i>n</i> =11)	<i>P</i>
血红蛋白中位值(g/L)	103(67~138)	93(72~168)	0.848
血小板中位值($\times 10^9$ /L)	193(38~424)	89(37~132)	<0.01
MNC 中位值($\times 10^8$ /kg)	13.61(8.09~24.16)	9.39(3.03~16.04)	—
CD34 ⁺ 细胞数中位值($\times 10^6$ /kg)	11.00(2.16~44.03)	0.76(0.11~1.98)	—

—: 此项未对比, 无数据。

2.3 相关性分析 对两组间差异有统计学意义的变量和采集物中 CD34⁺ 细胞数进行相关性分析: 患者化疗次数与其从诊断到采干的间隔时间呈正相关($r=0.655, P<0.01$), 也与治疗过程中疾病复发有相关性($r=-0.487, P<0.01$); 采集前外周血 WBC 和血小板水平呈正相关($r=0.388, P<0.01$); CD34⁺ 细胞采集量与患者诊断到采干的时间呈负相关($r=-0.422, P<0.01$), 与采集前外周血 WBC($r=0.337, P=0.019$)和血小板($r=0.579, P<0.01$)水平均呈正相关, 但与化疗疗程及是否复发并无相关性(均 $P>0.05$)。

2.4 动员采集过程中的不良反应 48 例患者在动员过程中, 有 6 例出现不良反应(12.50%), 其中 4 例为骨骼疼痛, 2 例出现发热。而在采集过程中, 有 2 例患者出现发热。并无患者出现四肢麻木、胸闷、心悸、呕吐等不良反应。

3 讨论

大剂量化疗联合自体造血干细胞移植已成为治疗恶性 NHL 的有效方法。然而, 有 5%~46% 的患者自体 PBSC 动员采集的 CD34⁺ 细胞数未能达到后续移植所需量, 其中 NHL 患者中动员采集失败率为 7%~37%^[6-12]。到目前为止, 许多可能影响 PBSC 动员采集的因素已被纳入研究, 包括年龄、性别、疾病类型、疾病分期、化疗疗程及是否放疗等, 但结果不一^[3-8]。

有研究表明, 年龄大于 60 岁, PBSC 动员采集效果明显变差^[13-14]。孙巍等^[5]对比了 151 例淋巴瘤患者自体 PBSC 动员采集的相关因素, 提示患者的年龄与采集的干细胞数呈负相关($r=-0.248, P<0.01$)。这可能是由于老年患者的骨髓储备相对较差, 化疗后骨髓增生恢复慢^[15]。但也有报道表明干细胞动员失败与年龄无关^[6-16]。在恶性血液病患者中, 性别对干细胞采集是否有影响存在争议。张曦等^[14]回顾性分析了 240 例患者的 PBSC 动员采集效果, 发现男性患者的干细胞动员采集效果优于女性。Micallef 等^[6]分析 52 例 NHL 患者动员采集的影响因素时, 也得出相同结论。同时也有报道发现性别对干细胞动员采集并无显著影响^[5]。本回顾性研究中, 并未发现患者年龄及性别对 PBSC 的动员采集成功率有显著影响。

大多数研究表明, 患者病程越长, 接受的化疗次数越多, 干细胞动员采集失败率越高^[5-6]。本项回顾性分析得出相同结论, 同时, 患者若在动员前曾经复发, 其 PBSC 的动员采集成功率明显降低。患者治疗后复发或者从诊断到动员的时间越长, 通常意味着化疗次数的增加, 可能导致多潜能干细胞池的消耗、抗药性产生等, 从而影响干细胞的动员采集^[17]。本研究还发现, 前期化疗(含氟达拉滨)会导致干细胞动员采集失败率增加, 这与某些研究结论相符合, 考虑前期的氟达拉滨治疗可能损伤干细胞^[3, 6]。但也有报道证实只要动员采集与末次使用氟达拉滨的间隔时间足够长, 患者仍旧可以获得满意的采集效果^[18]。而在 NHL 的美国国立综合癌症网络(NCCN)指南中也明确提到, 含氟达拉滨的方案对干细胞移植动员有负面影响^[1]。所以在患者治疗前, 应该进行全面评估, 拟后期行自体

干细胞移植者, 应控制前期化疗次数, 以及避免使用可能导致干细胞损伤的化疗药物。

Kuittinen 等^[12]对 97 例 NHL 患者动员失败的原因进行了分析, 单因素分析中发现与 NHL 患者干细胞动员失败相关的因素包括诊断时既有骨髓侵犯或者动员前出现骨髓侵犯, 以及采集前血小板水平偏低, 但是多因素分析时, 动员前出现骨髓侵犯被排除。Akhtar 等^[19]也发现在 NHL 患者中, 较高的血小板水平提示动员采集的 PBSC 较多, 但是否存在骨髓侵犯不影响采集结果。本研究所有患者在干细胞动员采集前, 骨髓涂片及淋巴瘤微小残留检测均阴性, 经过分析并未发现患者动员采集效果受诊断时的骨髓侵犯影响。动员采集的时机主要是依据外周血 WBC 水平来决定, 以间接判断骨髓造血情况^[20]。本研究通过对比两组患者采集前外周血 WBC、血红蛋白、血小板水平发现, WBC 及血小板水平可以影响干细胞动员采集成功率, 进一步的相关性分析提示两者呈正相关($r=0.388, P<0.01$)。采集物中 CD34⁺ 细胞数与采集前外周血血小板水平($r=0.579, P<0.01$)的相关性要强于 WBC 水平($r=0.337, P=0.019$)。故而推测, 血小板水平更能反映骨髓造血情况。血小板偏低可能反映了骨髓储备的贫乏, 也可能表明患者可能仍处于骨髓抑制期或者骨髓造血尚未完全恢复, 从而提示 PBSC 动员采集效果差^[12]。

综上所述, 自体干细胞移植是提高 NHL 患者疗效、延长生存时间的重要方法, 干细胞的动员采集对移植成功与否也至关重要。治疗前需全面评估疾病分期, 制订长远治疗计划, 若预计行自体移植者, 前期化疗次数不宜多, 动员采集也要尽早, 并尽量避免使用氟达拉滨等可能损伤干细胞的药物。采集前需同时关注患者外周血 WBC 和血小板水平, 以确认骨髓造血恢复, 找准动员采集时机。由于本研究中 NHL 各亚型病例数较少, 故未分析疾病亚型是否会影响 PBSC 动员采集。

临床上仍需要不断地总结和探索可能影响到干细胞动员采集的因素, 以调整前期治疗策略, 尽量避免负面影响因素, 或者提前预测动员采集可能失败的人群, 尽可能补救, 从而增加动员采集成功率, 为患者后续的自体干细胞移植提供充足的干细胞数量。

参考文献

- [1] Horwitz SM, Zelenetz AD, Gordon LI, et al. NCCN guidelines insights: non-hodgkin's lymphomas, version 3. 2016 [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2016, 14(9): 1067-1079.
- [2] Duong K, Savani N, Copelan ED, 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.

- [3] Kurnaz F, Kaynar L. Peripheral blood stem cell mobilization failure[J]. *Transfus Apher Sci*, 2015, 53(1): 3-7.
- [4] Hopman K, Dipersio F. Advances in stem cell mobilization[J]. *Blood Rev*, 2014, 28(1): 31-40.
- [5] 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.
- [6] Micallef IN, Apostolidis J, Rohatiner AZ, et al. Factors which predict unsuccessful mobilisation of peripheral blood progenitor cells following G-CSF alone in patients with non-Hodgkin's lymphoma[J]. *Hematol J*, 2000, 1(6): 367-373.
- [7] Perseghin P, Terruzzi E, Dassi M, et al. Management of poor peripheral blood stem cell mobilization: incidence, predictive factors, alternative strategies and outcome. A retrospective analysis on 2177 patients from three major Italian institutions[J]. *Transfus Apher Sci*, 2009, 41(1): 33-37.
- [8] Koenigsman M, Jentsch-Ullrich K, Mohren M, et al. The role of diagnosis in patients failing peripheral blood progenitor cell mobilization[J]. *Transfusion*, 2004, 44(5): 777-784.
- [9] Tricot G, Cottler-Fox H, Calandra G. Safety and efficacy assessment of plerixafor in patients with multiple myeloma proven or predicted to be poor mobilizers, including assessment of tumor cell mobilization[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2010, 45(1): 63-68.
- [10] Fruehauf S, Ehninger G, Hübel K, et al. Mobilization of peripheral blood stem cells for autologous transplant in non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma patients by plerixafor and G-CSF and detection of tumor cell mobilization by PCR in multiple myeloma patients[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2010, 45(2): 269-275.
- [11] Calandra G, Mccarty J, Mcguirk J, et al. AMD3100 plus G-CSF can successfully mobilize CD34⁺ cells from non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's disease and multiple myeloma patients previously failing mobilization with chemotherapy and/or cytokine treatment; compassionate use data[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2008, 41(4): 331-338.
- [12] Kuittinen T, Nousiainen T, Halonen P, et al. Prediction of mobilisation failure in patients with non-Hodgkin's lymphoma[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 33(9): 907-912.
- [13] Sheppard Dawn, Bredeson Christopher, Allan David, et al. Systematic review of randomized controlled trials of hematopoietic stem cell mobilization strategies for autologous transplantation for hematologic malignancies[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012, 18(8): 1191-1203.
- [14] 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.
- [15] Cottler-Fox Michele, Lapidot Tsvee. Mobilizing the older patient with myeloma[J]. *Blood Rev*, 2006, 20(1): 43-50.
- [16] Özkurt ZN, Yegin ZA, Suyani E, et al. Factors affecting stem cell mobilization for autologous hematopoietic stem cell transplantation[J]. *J Clin Apher*, 2010, 25(5): 280-286.
- [17] 王铁军, 骆群, 刘景汉. 影响外周血干细胞采集的因素[J]. *临床输血与检验*, 2000, 18(2): 34.
- [18] Nichols L, Skerrett L. Peripheral blood stem cell mobilization and harvesting after fludarabine therapy for low-grade lymphoma and chronic lymphocytic leukemia[J]. *Stem Cells Dev*, 2005, 14(1): 3-5.
- [19] Akhtar S, Weshi E, Rahal M, et al. Factors affecting autologous peripheral blood stem cell collection in patients with relapsed or refractory diffuse large cell lymphoma and Hodgkin lymphoma; a single institution result of 168 patients[J]. *Leuk Lymphoma*, 2008, 49(4): 769-778.
- [20] Pierelli L, Perseghin P, Marchetti M, et al. Best practice for peripheral blood progenitor cell mobilization and collection in adults and children; results of a Società Italiana Di Emaferesi e Manipolazione Cellulare (SIDEM) and Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO) consensus process[J]. *Transfusion*, 2012, 52(4): 893-905.

(收稿日期: 2016-12-28 修回日期: 2017-03-16)

(上接第 3327 页)

- membranes in prostate cancer cells[J]. *Nutr Biochem*, 2006, 17(5): 689-696.
- [9] Hsu YL, Chia CC, Chen PJ, et al. Shallot and licorice constituent isoliquiritigenin arrests cell cycle progression and induces apoptosis through the induction of ATM/p53 and initiation of the mitochondrial system in human cervical carcinoma HeLa cells[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2009, 53(6): 826-835.
- [10] Yuan X, Zhang B, Gan L, et al. Involvement of the mitochondrion-dependent and the endoplasmic reticulum stress-signaling pathways in isoliquiritigenin-induced apoptosis of HeLa cell[J]. *Biomed Environ Sci*, 2013, 26(4): 268-276.
- [11] Hollstein M, Hainaut P. Massively regulated genes; the example of TP53[J]. *Pathol*, 2010, 220(2): 164-73.
- [12] Kim E, Giese A, Deppert W. Wild-type p53 in cancer cells; when a guardian turns into a blackguard[J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77(1): 11-20.
- [13] 卫莹. GRIM-19 诱导子宫颈癌细胞中 p53 蛋白积聚的机制研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2010: 1-60.

(收稿日期: 2017-01-11 修回日期: 2017-03-21)