

· 论 著 ·

丹参酮联合 rhG-CSF 动员高龄健康供者外周血造血干细胞的效果分析*

刘 学, 张 曦, 陈幸华, 高 力, 张 诚, 李云龙, 刘焕凤, 高 蕾[△]

(第三军医大学新桥医院血液内科, 重庆 400037)

摘要:目的 研究丹参酮联合重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)方案对高龄健康供者外周血造血干细胞的动员效果。方法 回顾性分析 2008 年 11 月至 2010 年 12 月采用丹参酮联合 rhG-CSF 和单用 rhG-CSF 动员方案, 动员高龄健康供者外周血造血干细胞的效果。其中丹参酮联合 rhG-CSF 组 34 例, 单用 rhG-CSF 组 31 例; 年龄 45~60 岁, 平均 49.6 岁。中位体质量 61.2 kg(49.5~79.0 kg)。给予丹参酮注射液(40 mL/d)联合 rhG-CSF $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 或单用 rhG-CSF $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 行外周血干细胞动员。动员第 5 天采集外周血单个核细胞(MNC), 检测 MNC 和 CD34⁺ 细胞数。采集外周血干细胞于当日输注给患者(预处理结束后 24 h)。结果 丹参酮联合 rhG-CSF 组中 30 例供者 1 次采集充足, 4 例采集 2 次, 平均采集 MNC 数 $6.7(5.9 \sim 14.3) \times 10^8/\text{kg}$, CD34⁺ 细胞 $3.9(2.7 \sim 8.3) \times 10^6/\text{kg}$; 单用 rhG-CSF 组中 22 例 1 次采集充足, 9 例采集 2 次及以上, 平均采集 MNC 数 $5.3(4.6 \sim 11.9) \times 10^8/\text{kg}$, CD34⁺ 细胞数 $3.1(2.1 \sim 6.7) \times 10^6/\text{kg}$, 两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。造血干细胞移植预处理后所有患者均达到明显骨髓抑制, 丹参酮联合 rhG-CSF 组供者中性粒细胞恢复到 $0.5 \times 10^9/\text{L}$ 时间为 12.4(10~17)d, 血小板(PLT)恢复到 $20 \times 10^9/\text{L}$ 时间为 14.2(13~18)d; 单用 rhG-CSF 组供者中性粒细胞恢复到 $0.5 \times 10^9/\text{L}$ 时间为 12.8(10~18)d, PLT 恢复到 $20 \times 10^9/\text{L}$ 时间为 14.8(13~19)d, 两组比较差异均无统计学意义($P > 0.01$)。结论 丹参酮联合 rhG-CSF 动员方案可显著提高异基因造血干细胞移植高龄健康供者外周血干细胞动员效果, 保证移植后造血功能的重建。对于高龄供者是一种安全有效的动员造血干细胞的方法, 临床效果满意, 值得推广。

关键词:造血干细胞动员; 粒细胞集落刺激因子, 重组; 异基因外周血造血干细胞移植; 丹参酮; 血液系统肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.02.002

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)02-0107-03

Curative effect of tanshinone combined with rhG-CSF on mobilization of peripheral blood stem cells in elderly healthy donors*

Liu Xue, Zhang Xi, Chen Xinghua, Gao Li, Zhang Cheng, Li Yunlong, Liu Huanfeng, Gao Lei[△]

(Hematology Department, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To study the curative effect of tanshinone combined with recombinant human granulocyte colony stimulating factor(rhG-CSF) on mobilization of peripheral blood stem cells in elderly healthy donors. **Methods** A retrospective study of autologous peripheral blood stem cell mobilization by tanshinone combined with rhG-CSF or single rhG-CSF in patients from November 2008 to December 2010 was analyzed. Mobilization efficacy of peripheral blood stem cells was detected. 34 patients were treated with rhG-CSF and tanshinone, and 31 patients were treated with rhG-CSF only, age of 45-60 years, mean age of 49.6 years. The median weight was 61.2 kg (49.5-79.0 kg). Tanshinone (40 mL/d) combined with rhG-CSF ($10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) or single rhG-CSF ($10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) was used to mobilize peripheral blood stem cells. In the fifth day after mobilization, peripheral blood mononuclear cells were collected, and the number of MNC and CD34⁺ cells was detected. Peripheral blood stem cells were infused to patients on the same day (24 h after pretreatment). **Results** In tanshinone combined with rhG-CSF group, the average number of MNC was $6.7(5.9-14.3) \times 10^8/\text{kg}$, and that of CD34⁺ cells was $3.9(2.7-8.3) \times 10^6/\text{kg}$. In rhG-CSF group, the average number of MNC was $5.3(4.6-11.9) \times 10^8/\text{kg}$ ($P < 0.05$), and that of CD34⁺ cells was $3.1(2.1-6.7) \times 10^6/\text{kg}$ ($P < 0.05$). After treatment, all patients showed obvious bone marrow suppression. In tanshinone combined with rhG-CSF group, the time that the number of neutrophil recovered to $0.5 \times 10^9/\text{L}$ needed was 12.4(10-17)days, and the time that the number of PLT recovered to $20 \times 10^9/\text{L}$ needed was 14.2(13-18)days. In rhG-CSF group, the time that the number of neutrophil recovered to $0.5 \times 10^9/\text{L}$ needed was 12.8(10-18)d ($P > 0.01$), and the time that the number of PLT recovered to $20 \times 10^9/\text{L}$ needed was 14.8(13-19)d ($P > 0.01$). **Conclusion** Tanshinone combined with rhG-CSF mobilization program can significantly improve the effects of peripheral blood stem cell mobilization in elderly health donors with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, and ensure the reconstruction of hematopoietic function after transplantation. It is a safe and effective method of mobilizing hematopoietic stem cells for the elderly donors and worth for generalization.

Key words: hematopoietic stem cell mobilization; granulocyte colony stimulating factor, recombinant; allogeneic peripheral blood stem cell transplantation; tanshinone; neoplastic hematologic disorder

异基因造血干细胞移植(Allo-PBSCT)是治疗血液系统恶性肿瘤的重要手段之一。与骨髓移植比较,具有受者造血、免疫功能恢复快,以及供者不需麻醉、创伤性小、安全性高、操作简便的优点。避免骨髓采集手术的不适,有利于扩大供者来源

等势^[1-3],且二者疗效差异无统计学意义。近年来,Allo-PB-SCT 已经取代异基因骨髓移植被广泛应用于临床治疗血液系统恶性肿瘤^[4]。但生理状态下,外周血液中的干细胞(PBSC)数量及 CD34⁺ 细胞数均非常低^[5]。如何有效地将造血干/祖细胞从骨髓动员至外周血液循环是进行 Allo-PBSC 的关键。目前,粒细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte colony stimulating factor, rhG-CSF),因其具有动员的外周血单个核细胞含有足够量 CD34⁺ 细胞数、安全、不良反应小等特点,已经作为健康供者的动员剂,被广泛运用于临床。但是,对于年龄偏大的供者,其骨髓储备往往较差,动员效果不理想,需要多次采集,增加供者痛苦,增加费用。如何提高高龄供者外周血造血干细胞动员效果,仍需进一步的研究。近年来,有实验研究显示丹参酮具有动员、诱导、促进增殖骨髓干细胞的作用^[6-8]。采用丹参酮联合 rhG-CSF 是否能够提高外周血造血干细胞动员的效果,值得临床研究。本科于 2008 年 11 月至 2010 年 12 月对 34 例高龄健康供者采用丹参酮联合 rhG-CSF 方案进行外周血造血干细胞动员,效果优于单用 rhG-CSF 方案,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 11 月至 2010 年 12 月随机选取本科行异基因外周血造血干细胞移植治疗血液系统恶性肿瘤的高龄健康供者 65 例。其中,男 34 例(丹参酮联合 rhG-CSF 组 18 例,单用 rhG-CSF 组 16 例),女 31 例(丹参酮联合 rhG-CSF 组 16 例,单用 rhG-CSF 组 15 例);年龄 45~60 岁,平均 49.6 岁。中位体质量 61.2 kg(49.5~79.0 kg)。所有供者均为自愿捐献外周血干细胞的亲缘供者,与受者白细胞抗原(HLA)配型为全相合。通过体检,严格筛查并排除感染性疾病、慢性系统性疾病及其他不适于捐献外周血造血干细胞条件,所有健康供者均签署造血干细胞动员和采集知情同意书。

1.2 动员方案、采集 单用 rhG-CSF 组:单用 rhG-CSF 10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 进行干细胞动员;丹参酮联合 rhG-CSF 组:rhG-CSF 10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 加丹参酮注射液 40 mL/d 进行干细胞动员。均皮下注射动员剂 rhG-CSF,连续 4~6 d。第 5 天开始采集外周血干细胞^[9],连续采集 1 d 或 2 d。干细胞采集前查血常规、白细胞分类估算外周血液循环中外周血单个核细胞(MNC)数。当 MNC 升至 4.0 $\times 10^9/\text{L}$ 以上时采集 MNC^[10]。干细胞采集当天查血常规、白细胞分类估算外周血液循环中 MNC 数。干细胞采集全部采用美国 BaxterCS3000puls 血细胞分离机,常规使用 ACD 抗凝。采集时每次循环量为 8 000~12 000 mL,采集产物量约为 50~60 mL。所有患者采集得到 MNC、CD34⁺ 均数达到移植所需的异基因外周血造血干细胞移植的数量要求。将采集到的干细胞在预处理结束 24 h 后开始回输。

1.3 预处理方案、干细胞回输 急性髓系白血病患者均采用白消安(Bu)加 Cy 方案进行预处理:Bu 0.8 mg/kg,每 6 小时 1 次,第 1~4 天;磷酰胺(CTX) 60 mg,第 5~6 天。急性淋巴细胞白血病预处理方案:全身照射 TBI(8.5~9 Gy,分 2 天用)加 CTX 60 mg/kg,第 4~5 天。PBSC 于预处理结束 24 h 后输注。PBSC 回输 24~48 h 后开始使用 rhG-CSF 10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 促进造血重建。

1.4 并发症防治和支持治疗 患者经全面体检,在确认无心、肺、肝及肾等重要脏器功能病变后,请相关科室会诊,排除感染

以及可能的潜在感染病灶,使用口服抗细菌、真菌和卡氏肺孢子菌药物行肠道净化准备 1 周。药浴后入住无菌层流病房,行颈内静脉置管,以便胃肠外营养及大量输液。移植期间输注浓缩红细胞纠正贫血,输血小板预防出血。当血红蛋白在 60 g/L 以下或者出现明显的贫血症状时输注浓缩红细胞,维持血小板在 10 $\times 10^9/\text{L}$ 以上,或有出血表现时输注血小板。采用 ⁶⁰Co 照射 2 500 rad 灭活血小板悬液中的淋巴细胞,预防输血相关移植物抗宿主病。红细胞和血小板输注均采用含有白细胞过滤装置的输血器输注。预处理期间充分水化、碱化尿液预防出血性膀胱炎,预防肝静脉闭塞综合征,维持尿量在 3 000 mL \cdot (m²)⁻¹ \cdot d⁻¹ 以上,尿 pH 6.8~7.2。预处理同时给予止吐、保胃、保心、保肝等辅助治疗。移植期间注意监测血常规,肝、肾功能,凝血四项,电解质,EB 病毒抗体, TORCH 等。在出现粒细胞缺乏期间,给予丙种球蛋白提高免疫力,以及抗细菌、抗病毒、抗真菌药物预防感染。

2 结果

2.1 外周血造血干细胞采集 8 例供者第 4 天开始采集,均为丹参酮联合 rhG-CSF 组,其中采集 2 次者 4 例,年龄均在 58 岁及以上;55 例供者第 5 天采集,其中采集 2 次者 7 例,均为单用 rhG-CSF 组;2 例供者第 6 天开始采集,均为单用 rhG-CSF 组,采集次数均在 2 次以上,其中 1 例采集 4 次。丹参酮联合 rhG-CSF 组:采集当天查血常规、白细胞分类估算外周血液循环中 MNC 数(4.9~27.9) $\times 10^9/\text{L}$,平均采集 MNC 数 6.7(5.9~14.3) $\times 10^8/\text{kg}$,CD34⁺ 细胞数 3.9(2.7~7.3) $\times 10^6/\text{kg}$;单用 rhG-CSF 组:采集当天查血常规、白细胞分类估算外周血液循环中 MNC 数(4.2~23.8) $\times 10^9/\text{L}$,平均采集 MNC 数 5.3(4.6~11.9) $\times 10^8/\text{kg}$,CD34⁺ 细胞数 3.1(2.1~6.7) $\times 10^6/\text{kg}$,两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。动员期间 5 例出现发热,丹参酮联合 rhG-CSF 组 2 例,单用 rhG-CSF 组 3 例;9 例供者出现轻度髋骨疼痛,丹参酮联合 rhG-CSF 组 6 例,单用 rhG-CSF 组 3 例。

2.2 造血功能重建情况 患者预处理结束 24 h 后输注异基因 PBSC,所有患者预处理后均发生严重骨髓抑制,在移植 6~14 d,WBC 下降到最低点($< 0.05 \times 10^9/\text{L}$),PLT 下降到最低点($< 10 \times 10^9/\text{L}$)。丹参酮联合 rhG-CSF 组:中性粒细胞恢复到 0.5 $\times 10^9/\text{L}$ 时间为 12.4(10~17)d,PLT 恢复到 20 $\times 10^9/\text{L}$ 时间为 14.2(13~18)d;单用 rhG-CSF 组:中性粒细胞恢复到 0.5 $\times 10^9/\text{L}$ 时间为 12.8(10~18)d,PLT 恢复到 20 $\times 10^9/\text{L}$ 时间为 14.8(13~19)d,两组比较差异均无统计学意义($P > 0.01$)。两组移植患者均无 1 例因造血功能重建延迟而死亡。

3 讨论

Allo-PBSC 是治疗血液系统恶性肿瘤的一种重要、有效的手段。而 PBSC 的动员是影响 Allo-PBSC 成功的关键因素。细胞因子 rhG-CSF 作为动员剂,目前已经被广泛运用于异基因外周血造血干细胞移植。但一些年龄偏大、骨髓储备功能差的供者^[11-12],动员效果往往不理想,不能动员足够的干细胞到外周血液循环中,故增加采集次数及难度,同时增加了供者的痛苦及费用。丹参酮具有增殖骨髓干细胞,促进并动员骨髓干细胞到外周血液循环中的作用,具体机制不详,可能与其活血化淤作用相关。丹参酮是否有促进造血干细胞增殖的作用,目前尚未见相关的报道,有待进一步探索。本研究运用丹参酮联合 rhG-CSF 动员的方案进行干细胞动员与不加丹

参酮组的供者进行比较。从采集当天动员到外周血液循环中的 MNC 数,采集所得总的 MNC 数、CD34⁺ 细胞数、采集次数来看,细胞因子(rhG-CSF)联合丹参酮动员效果优势明显。干细胞动员期间有供者出现了发热、髌骨胀痛等不良反应。9 例供者(丹参酮联合 rhG-CSF 组 6 例,单用 rhG-CSF 组 3 例)出现轻度髌骨胀痛不适,为动员期间造血干细胞在骨髓内倍增引起。5 例供者出现发热不适,两组供者均有。rhG-CSF 的药品说明书中不良反应就有发热,也有大量的文献报道 rhG-CSF 在临床运用中出现发热不良反应^[13-15]。而丹参酮注射液的药品说明书中尚未见有关不良反应报道。所以,丹参酮组供者出现发热不良反应是由 rhG-CSF 引起,与丹参酮无关,说明丹参酮具有安全、有效、无不良反应等特点。说明本方案是 PBSC 动员安全、有效、可行的方案,值得临床进一步推广。

参考文献:

[1] Goldman J. Peripheral blood stem cells for allografting [J]. *Blood*, 1995, 85(6): 1413-1415.

[2] Couban S, Simpson DR, Barnett MJ, et al. A randomized multicenter comparison of bone marrow and peripheral blood in recipients of matched sibling allogeneic transplants for myeloid malignancies[J]. *Blood*, 2002, 100(5): 1525-1531.

[3] 徐岚,胡炯,吴文,等.造血干细胞移植治疗血液恶性肿瘤的生存分析[J]. *肿瘤*, 2007, 27(4): 312-315.

[4] Jansen J, Thompson JM, Dugan MJ, et al. Peripheral blood progenitor cell transplantation[J]. *Ther Apher*, 2002, 6(1): 5-14.

[5] To LB, Haylock DN, Simmons PJ, et al. The biology and clinical uses of blood stem cell[J]. *Blood*, 1997, 89(7): 2233-2258.

[6] 唐映,杨万章.丹参诱导干细胞分化的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2007, 5(8): 721-723.

[7] 钟鸣,苏海.心肌损伤时复方丹参滴丸的骨髓干细胞动员作用[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2008, 18(9): 529-531.

[8] 魏沙,闫福曼,周乐全,等.丹参酮 II A 磺酸钠对骨髓间充质干细胞促增殖作用的研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2010, 12(12): 56-58.

[9] 陈晓霞,王智明,罗贤生,等.健康供者外周血造血干细胞动员后采集的最佳时机[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(6): 1068-1071.

[10] 王平,彭贤贵,陈幸华,等.单倍相合异基因外周血联合骨髓造血干细胞移植的干细胞采集及移植效果评价[J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35(5): 584-586.

[11] Reddy RL. Mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells for transplantation[J]. *Transfus Apher Sci*, 2005, 2(1): 63-66.

[12] Mauricio R, Sousa GD, Seghatchian J. What's happening: an overview of potential adverse reactions associated with apheresis technology[J]. *Transfus Apher Sci*, 2005, 33(3): 351-355.

[13] 余喆,葛林阜,黄宁,等.健康供者造血干细胞动员和采集效果的分析[J]. *中华临床医师杂志*, 2010, 4(9): 1662-1664.

[14] 王琳,史克珊,白志明,等. rhG-CSF 动员外周血干细胞对健康供者的影响[J]. *海南医学*, 2005, 16(6): 2-4.

[15] 邓琳,王红祥,丁胜,等.外周血造血干细胞动员采集 138 例临床分析[J]. *现代预防医学*, 2010, 37(12): 2345-2347.

(收稿日期:2011-08-17 修回日期:2011-09-06)

(上接第 106 页)

[6] Li H, Qian Z, Liu Z, et al. Risk factors and outcome of acute renal failure in patients with severe acute pancreatitis [J]. *J Crit Care*, 2010, 25(2): 225-229.

[7] Chavakis T, Keiper T, Matz-Westphal R, et al. The junctional adhesion molecule-C promotes neutrophil transendothelial migration in vitro and in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(53): 55602-55608.

[8] Aurrand-Lions M, Lamagna C, Dangerfield JP, et al. Junctional adhesion molecule-C regulates the early influx of leukocytes into tissues during inflammation[J]. *J Immunol*, 2005, 174(10): 6406-6415.

[9] Ludwig RJ, Zollner TM, Santoso S, et al. Junctional adhesion molecules (JAM)-B and -C contribute to leukocyte extravasation to the skin and mediate cutaneous inflammation[J]. *J Invest Dermatol*, 2005, 125(5): 969-976.

[10] Almer G, Busso N, Aurrand-Lions M, et al. Expression and function of junctional adhesion molecule-C in human

and experimental arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(2): 176-178.

[11] Chavakis T, Keiper T, Matz-Westphal R, et al. The junctional adhesion molecule-C promotes neutrophil transendothelial migration in vitro and in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 1780-1783.

[12] Scheiermann C, Colom B, Meda P, et al. Junctional adhesion molecule (JAM)-C mediates leukocyte infiltration in response to ischemia reperfusion injury[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(10): 1509-1511.

[13] Vonlaufen A, Aurrand-Lions M, Pastor CM, et al. The role of junctional adhesion molecule C (JAM-C) in acute pancreatitis[J]. *J Pathol*, 2006, 209(4): 540-548.

[14] 李荣洲,任宗海,林讷,等.急性胰腺炎患者血清 ICAM-1、TNF- α 和 P 选择素浓度与病情严重程度的关系[J]. *胰腺病学*, 2005, 5(3): 170-171.

(收稿日期:2011-06-13 修回日期:2011-08-15)