

• 临床检验研究 •

丹参酮联合 rhG-CSF 动员自体外周血造血干细胞的疗效分析*

刘 学, 高 蕾[#], 张 曦[△], 陈幸华, 高 力, 张 诚, 李云龙, 刘焕凤
(第三军医大学新桥医院血液科/重庆市医学重点学科, 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,对多次化疗血液肿瘤患者自体外周血造血干细胞移植动员效果。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 动员方案动员外周血造血干细胞疗效。结果 丹参酮联合 rhG-CSF 组中,28 例 1 次采集充足,3 例(均为双次移植)采集 2 次,平均采集 MNC 数 8.6×10^8 个/千克 $[(6.1 \sim 12.3) \times 10^8$ 个/千克], $CD34^+$ 细胞 5.9×10^6 个/千克 $[(2.5 \sim 10.3) \times 10^6$ 个/千克];单用 rhG-CSF 组中,26 例 1 次采集充足,9 例(2 例为双次移植)采集 2 次,平均采集 MNC 数 7.3×10^8 个/千克 $[(4.4 \sim 10.9) \times 10^8$ 个/千克], $CD34^+$ 细胞 4.1×10^6 个/千克 $[(2.0 \sim 8.7) \times 10^6$ 个/千克], $P < 0.05$ 。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,中性粒细胞恢复到 $0.5 \times 10^9/L$,时间为 $+10.4 d (+8 \sim +14 d)$,造血干细胞移植后第 1 天开始计算为 $+1 d$;PLT 恢复到 $20 \times 10^9/L$,时间为 $+13.8 d (+10 \sim +17 d)$;单用 rhG-CSF 组,中性粒细胞恢复到 $0.5 \times 10^9/L$,时间为 $+10.8 d (+8 \sim +15 d)$, $P > 0.01$,PLT 恢复到 $20 \times 10^9/L$,时间为 $+14.2 d (+11 \sim +19 d)$, $P > 0.01$ 。结论 丹参酮联合 rhG-CSF 动员方案可显著提高自体外周血造血干细胞动员效果,保证移植后造血功能的重建。对于高龄、反复化疗患者是一种安全、有效的动员造血干细胞的方法,临床疗效满意,值得推广。

关键词:血液肿瘤; 粒细胞集落刺激因子,重组; 造血干细胞移植; 丹参酮; 动员

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)11-1156-03

Curative effect of Tanshinone combine rhG-CSF mobilize autologous peripheral blood stem cells*

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

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

Abstract: **Objective** To study the curative effect of Tanshinone combine recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) to mobilize autologous peripheral blood stem cells on neoplastic hematologic patients conceived many times chemotherapy. **Methods** A retrospective study of autologous peripheral blood stem cells mobilization by Tanshinone combine rhG-CSF or single rhG-CSF from November 2008 to December 2010. Tanshinone combine rhG-CSF with 31 patients, rhG-CSF alone with 35 cases, the average age was 40.6 years (18 to 63 years); include malignant lymphoma 53 cases, acute myeloid leukemia (AML) 9 cases, and acute lymphoblastic leukemia (ALL) 4 cases. Before mobilization, all patients average receiving 5 (3 to 8) cycles of chemotherapy. Mobilization program: malignant lymphoma and ALL were treated with MOED chemotherapy, AML were treated with MA regimen. When the WBC began to rise after get to the minimum, give Tanshinone (40 mL/d) combined rhG-CSF $10 \mu g/(kg \cdot d)$, or single give rhG-CSF $10 \mu g/(kg \cdot d)$. WBC of all patients decreased to $1.0 \times 10^9/L$ during mobilization, and PLT dropped to $35 \times 10^9/L$. After mobilize four days, peripheral blood mononuclear cells collected, and detect the number of MNC and $CD34^+$ cells. Autologous peripheral blood stem cells were infused after 24–36 hours post-regimen. **Results** In Tanshinone combine rhG-CSF group, the average number of collected MNC number is $[8.6 \times 10^8/kg (6.1 \sim 12.3) \times 10^8/kg]$, and $CD34^+$ cells is $[5.9 \times 10^6/kg (2.5 \sim 10.3) \times 10^6/kg]$. In rhG-CSF group, the average collected MNC number is $[7.3 \times 10^8/kg (4.4 \sim 10.9) \times 10^8/kg]$ ($P < 0.05$), and $CD34^+$ cells is $[4.1 \times 10^6/kg (2.0 \sim 8.7) \times 10^6/kg]$ ($P < 0.05$). After regimen, all hematopoietic stem cell transplant patients has obvious bone marrow suppression. In Tanshinone combine rhG-CSF group, neutrophil recovery to $0.5 \times 10^9/L$ time is $+10.4 (+8 \sim +14)$ days, and PLT recovery to $20 \times 10^9/L$ time is $+13.8 (+10 \sim +17)$ days; In rhG-CSF alone group, neutrophil recovery to $0.5 \times 10^9/L$ time is $+10.8 (+8 \sim +15)$ days ($P > 0.01$), and PLT recovery to $20 \times 10^9/L$ time is $+14.2 (+11 \sim +19)$ days ($P > 0.01$). **Conclusion** Tanshinone combine rhG-CSF mobilization program can significantly increase the effect of autologous peripheral blood stem cell mobilization and ensure the reconstruction of hematopoietic function after transplantation. For the elderly patients and patients with many times chemotherapy, Tanshinone combine rhG-CSF is a safe and effective method of mobilizing hematopoietic stem cells.

Key words: hematologic neoplasms; granulocyte colony stimulating factor, recombinant; hematopoietic stem cell transplantation; Tanshinone; mobilization

外周血造血干细胞移植是治疗血液肿瘤的重要手段^[1],但目前已经被广泛地应用于血液肿瘤的治疗,并取得较好的疗效。但生理状态下,外周血中的干细胞(PBSC)数量仅为骨髓中的 $0.1\% \sim 1.0\%$, $CD34^+$ 细胞则仅占外周血单个核细胞的

0.01%~0.10%^[2]。如欲获取足够用于移植的造血干细胞,须进行 8~14 次采集,临床应用困难。因此,有效地将造血干细胞从骨髓动员至外周血是进行外周血造血干细胞移植的关键。目前,临床上常规采用重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)动员外周血造血干细胞,取得较好的效果。但对于移植前进行多次化疗的患者,骨髓储备较差,临床动员效果往往不尽人意,如何提高这些患者外周血造血干细胞动员效果,仍需进一步的研究。研究显示,丹参酮具有动员、诱导造血干细胞的作用^[3-4]。采用丹参酮联合 rhG-CSF 是否能够提高造血干细胞动员效果的作用,值得临床深入研究。本科 2008~2010 年对 31 例多次化疗患者采用丹参酮联合 rhG-CSF 动员方案进行外周血造血干细胞动员,效果优于单用 rhG-CSF 方案,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008~2010 年本科随机选取行自体外周血造血干细胞移植治疗血液系统恶性肿瘤的患者共 66 例。其中,男 32 例(丹参酮联合 rhG-CSF 组 15 例,单用 rhG-CSF 组 17 例),女 34 例(丹参酮联合 rhG-CSF 组 16 例,单用 rhG-CSF 组 18 例)。年龄 18~63 岁,平均 40.6 岁,其中 18~45 岁患者 39 例(丹参酮联合 rhG-CSF 组 17 例,单用 rhG-CSF 组 22 例),占总数的 59.1%;45~55 岁 16 例(丹参酮联合 rhG-CSF 组 7 例,单用 rhG-CSF 组 8 例),占 24.2%;55 岁以上 11 例(丹参酮联合 rhG-CSF 组 7 例,单用 rhG-CSF 组 5 例),占 16.7%。非霍奇金淋巴瘤 41 例(双次移植 2 例)、霍奇金淋巴瘤 12 例(双次移植 1 例),急性淋巴细胞白血病 4 例,急性髓系白血病 9 例(双次移植 2 例)。所有淋巴瘤患者均行病理组织活检及免疫组化染色确诊,经骨髓穿刺、B 超、X 光片、CT 等检查进行临床分期,其中有 3 例非霍奇金淋巴瘤患者骨髓受累,1 例霍奇金淋巴瘤骨髓受累;急性髓系白血病及急性淋巴细胞白血病行骨髓细胞形态学检查、细胞流式及荧光原位杂交技术(FISH)检查确诊。移植前 66 例患者行骨髓活检及骨髓涂片检查证实骨髓增生正常。所有淋巴瘤患者行干细胞动员采集前均进行常规或大剂量化疗 4~6 个疗程,所有白血病患者行干细胞动员采集前均进行常规化疗或大剂量化疗 2~8 个疗程,明确诊断到接受移植治疗的时间是(8.2±4.1)个月。淋巴瘤行干细胞移植前均达 CR 或者 PR;急性淋巴细胞白血病与急性髓系白血病患者行干细胞动员采集前均达 CR。移植前均除外感染的可能。采用丹参酮注射液联合 rhG-CSF 动员方案行 APB-SCT 31 例;单用 rhG-CSF 动员方案行 APBSCT 35 例。

1.2 动员方案、采集、冻存 淋巴瘤和急性淋巴细胞白血病患者采用动员方案^[5]:米托蒽醌(M),0.6 mg/kg 分 3 d 使用;长春新碱(O),1.4 mg/m² 或者长春地辛 2 mg/m²,d1;依托泊苷(E),100 mg/d,d1~d3;地塞米松(D),6 mg/m²,d1~d5。急性髓系白血病患者,采用动员方案:米托蒽醌(M),0.6 mg/kg,分 3 d 使用;阿糖胞苷(A),1 g/m²,q12h,d1~d3,当白细胞降至低谷,回升时开始给予动员剂行干细胞动员,单用 rhG-CSF 组:单用 rhG-CSF 10 μg/(kg·d)行干细胞动员;丹参酮联合 rhG-CSF 组:rhG-CSF 10 μg/(kg·d)联合丹参酮注射液(40 mL/d)行干细胞动员。干细胞采集前,查血常规、白细胞分类估算外周血液循环中 MNC 数。当 MNC 升至 4.0×10⁹/L 以上时采集单个核细胞。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。干细胞采集全部使用美国 Baxter CS3000 puls 血细胞分离机^[6-7],常规使 ACD 抗凝,采集

1~2 次。每次循环量 8 000~12 000 mL。所有患者采集得到单个核细胞(MNC)、CD34⁺ 均数达到移植所需的外周血造血干细胞移植的数量。将所采集的造血干细胞样品根据 MNC 计数结果,向干细胞液中加入保护剂,浓度为 5%二甲基亚砜(DMSO),3%羟乙基淀粉(HES)和 4%人血清蛋白(HSA),调整细胞浓度为(8.0~29.9)×10⁷/mL,不经程序降温,直接于-80℃冰箱冻存外周血干细胞^[8-9]。干细胞回输在预处理结束后 24~36 h 进行,将冻存干细胞直接从-80℃冰箱取出,在水浴 40~42℃快速解冻后立即快速回输。

1.3 预处理方案、干细胞回输 所有淋巴瘤及急性髓系白血病患者均采用 CEAC 方案行预处理:环磷酰胺(CTX) 1.5 g/m²,d1~d4;依托泊苷(E)100 mg/m²,d1~d4;阿糖胞苷 100 mg/m²,q12h,d1~d4;洛莫司丁(CCNU)200 mg/m²,d1。急性淋巴细胞白血病方案预处理:全身照射 TBI(8.5~9 Gy)+CTX 60 mg/kg,d5~d6。PBSC 于预处理结束 24~36 h 后全部回输。PBSC 回输 24~48 h 后开始使用 rhG-CSF 10 μg/kg·d 促进造血重建。

1.4 支持治疗和并发症防治 患者经全面检查,无心、肺、肝及肾等重要脏器功能不全。请相关科室会诊,排除感染以及可能的潜在感染病灶,常规使用口服抗细菌、抗真菌药物行肠道准备 1 周。药浴后入住无菌层流病房。行颈静脉置管,以便给予胃肠外营养及大量输液。输注单采血小板预防出血,浓缩红细胞纠正贫血。维持血小板在 10×10⁹/L 以上,在有出血表现时及时输注血小板,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。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时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 3 000 mL/(m²·d)以上,尿 pH 值 6.8~7.2。预处理同时注意止吐及保护心、肝等重要脏器功能。在粒细胞缺乏期间,给予丙种球蛋白提高免疫力,抗细菌、抗病毒、抗真菌药物预防感染。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 等相关检查。

2 结果

2.1 PBSC 动员、采集效果 外周血干细胞动员期间,白细胞降至最低点为化疗后第 11~14 天,白细胞均降低至 1.0×10⁹/L 以下[(0.1~0.8)×10⁹/L],PLT 降至 40×10⁹/L[(4~36)×10⁹/L],化疗后第 14~18 天采集,一般使用 rhG-CSF 共 5 d(4~6 d)。66 例患者,其中 54 例 1 次采集即成功,12 例(双次移植患者 5 例,双次移植患者需要干细胞数量较单次移植增加 1 倍)作第 2 次采集。丹参酮联合 rhG-CSF 组:动员第 5 天查血常规、白细胞分类估算外周血液循环中 MNC 数(5.3~19.7)×10⁹/L,28 例 1 次采集充足,3 例采集 2 次患者均行双次移植。平均采集 MNC 数 8.6×10⁸个/千克[(6.1~12.3)×10⁸个/千克],CD34⁺细胞 5.9×10⁶个/千克[(2.5~10.3)×10⁶个/千克];单用 rhG-CSF 组,动员第 5 天查血常规、白细胞分类估算外周血液循环中 MNC 数[(4.2~17.8)×10⁹/L],26 例 1 次采集充足,9 例采集 2 次,除 2 例为双次移植患者需 2 次采集才能满足干细胞量外,其余 7 例患者化疗在 4 次以上或者年龄在 55 岁以上,平均采集 MNC 数 7.3×10⁸个/千克[(4.4~10.9)×10⁸个/千克],P<0.05;CD34⁺细胞 4.1×10⁶个/千克[(2.0~8.7)×10⁶个/千克],P<0.05。动员期间 4

例患者有皮肤或黏膜出血点,3 例出现发热,1 例发生肺部感染,2 例患者出现口腔黏膜炎,7 例患者出现轻度髋骨胀痛。

2.2 造血功能重建情况 经预处理后 24~36 h 回输自体 PBSC,所有病例预处理后均发生严重骨髓抑制,在移植+6~+14 d(造血干细胞移植后第一天开始计算为+1 d),白细胞下降到最低点($<0.1\times10^9/L$),血小板计数下降到最低($<10\times10^9/L$)。丹参酮联合 rhG-CSF 组:中性粒细胞恢复到 $0.5\times10^9/L$ 时间为+10.4 d[(+8~+14)d],PLT 恢复到 $20\times10^9/L$ 时间为+13.8 d[(+10~+17)d];单用 rhG-CSF 组:中性粒细胞恢复到 $0.5\times10^9/L$ 时间为+10.8 d[(+8~+15)d], $P>0.01$,血小板计数恢复到 $20\times10^9/L$ 时间为+14.2 d[(+11~+19)d], $P>0.01$ 。2 组移植患者均无一例发生移植相关并发症而死亡。

3 讨 论

APBSCT 是治疗恶性血液系统肿瘤的一种重要、有效手段^[10],而 PBSC 的动员是影响 APBSCT 成功的关键因素。目前可供临床选用的动员方法有三种:单用细胞因子;单用骨髓抑制性化疗;化疗联用细胞因子^[11]。单用细胞因子者有刺激髓体内肿瘤细胞增殖的危险,单用化疗虽然可以避免上述情况,但动员作用太弱,无法动员足够数量的干细胞。而化疗联合细胞因子 rhG-CSF 动员方案可以克服上述两个缺点,目前已经被广泛运用于自体外周血造血干细胞移植。但一些经过多次化疗或者年龄偏大的患者,因其骨髓储备能力较差,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^[12],同时增加了患者的痛苦及费用。丹参酮具有促进、动员骨髓干细胞到外周血的作用,具体机制不详,可能与其活血化痰的作用相关^[3]。作者在化疗联合 rhG-CSF 动员方案的基础上加用丹参酮进行干细胞动员,并与不加丹参酮组的患者进行比较。从采集当天动员到外周血液循环中的 MNC 细胞数,采集所得的 MNC 总数、CD34⁺ 细胞数、采集次数来看,化疗加细胞因子(rhG-CSF)联合丹参酮动

员效果优势明显。说明本方案是 PBSC 动员安全、有效、可行的方案,对于老年患者和多次化疗患者,动员优势可能更加明显,值得临床进一步推广。

参考文献

[1] 李虎生,张华,陶晓明. 自体外周血造血干细胞移植治疗恶性血液病及实体瘤[J]. 广西医学,2009,31(7):654-656.
[2] To LB, Haylock DN, Simmons PJ, et al. The biology and clinical uses of blood stem cell[J]. Blood,1997,89(7):2233-2258.
[3] 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.
[4] 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.
[5] 高蕾,陈幸华,刘林,等. MOEP 化疗联合 G-CSF 动员外周血干细胞的临床观察[J]. 重庆医学,2002,31(6):493-495.
[6] 张玉红,单泓. 外周血造血干细胞采集及移植效果分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2008,12(34):6743-6745.
[7] 王良绪,禹涛,赵昕,等. 外周血干细胞的动员和采集及移植造血重建研究[J]. 中华血液学杂志,1995,17(5):254-256.
[8] 彭贤贵,陈幸华,刘林,等. -80℃条件下不同细胞浓度外周血干细胞冻存效果的实验观察[J]. 重庆医学,2003,32(10):1307-1308.
[9] 杜鹃,吴胜其,吴杨. 自体外周血造血干细胞动员采集及冻存研究[J]. 现代肿瘤医学,2005,13(1):63-64.
[10] 卢英豪,王季石,孙志强,等. 自体外周血造血干细胞移植治疗恶性血液病临床运用研究[J]. 贵州医药,2008,32(3):195-198.
[11] Ruiz GJA, Lopez-Ongil S, Gonzalez-Rubio M, et al. Reactiveoxygen species induce proliferation of bovine aortic endothelialcells[J]. J Cardiovasc Pharmacol,2000,35(1):109-113.
[12] 胡炯,赵维莅,朱莉萍,等. 造血干细胞的动员及采集的影响因素[J]. 上海交通大学学报,2007,27(9):1132-1139.

(收稿日期:2011-03-07)

(上接第 1155 页)

94(3):364-371.
[3] Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, et al. Genetic abnormalities and survival in multiplemyeloma; the experience of the intergroupe francophone du myélome[J]. Blood,2007,109(8):3489-3495.
[4] Du QF, Liu XL, Song LL, et al. The application of dual fusion iter-phase fluorescence in situ hybridization probe in detecting minimal residual disease in chronic myeloid leukemia[J]. Chin J Intern Med,2002,41:801-804.
[5] Cortes J, Talpaz M, O'Brien S, et al. Molecular responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase treated with imatinib mesylate[J]. Clin Cancer Res,2005,11(9):3425-3432.
[6] Awaya N, Rupert K, Bryant E, et al. Failure of adult marrow-derived stem cells to generate marrow stroma after successful hematopoietic stem cell transplantation[J]. Experimental Hematology,2002,30:937-943.
[7] 钱思轩,薛永权. 荧光原位杂交技术在异性间造血干细胞移植后

Ph 阳性白血病的检测意义[J]. 中华内科杂志,2006,45(3):234-235.
[8] Turkiewicz D, Gorczynska E, Toporski J, et al. Monitoring of hematopoietic chimerism after sex-mismatched allogeneic stem cell transplantation(allo-SCT) by dual-color FISH analysis of X and Y chromosomes[J]. Leukemia Research,2003,27(11):993-999.
[9] Fuehrer M, Gerusel-Bleck M, Konstantopoulos N, et al. FISH analysis of native smears from bone marrow and blood for the monitoring of chimerism and clonal markers after stem cell transplantation in children[J]. International journal of molecular medicine,2005,15(2):291-297.
[10] Olavarria E, Ottmann OG, Deininger M, et al. Response to imatinib in patients who relapse after allogeneic stem cell transplantation for chronicmyeloid leukemia[J]. Leukemia,2003,17(9):1707-1712.

(收稿日期:2011-03-07)