

论著·临床研究

CIE 及 IEV 方案在恶性实体瘤儿童自体外周血 干细胞动员和采集中的应用

张谊¹ 张伟令¹ 黄东生¹ 杨怡平¹ 刘晓超² 吴怡平²

(1. 首都医科大学附属北京同仁医院儿科, 北京 100730;
2. 首都医科大学附属北京同仁医院中心实验室, 北京 100730)

[摘要] **目的** 自体外周血干细胞移植(APBSCT)是治疗儿童恶性实体瘤的重要方法之一,干细胞动员与采集是决定造血重建的重要因素。本研究采用 CIE 及 IEV 动员方案对儿童神经母细胞瘤(NB)及横纹肌肉瘤进行干细胞动员和采集,并对临床效果进行评价。**方法** 8例IV期NB患儿采用CIE化疗方案动员,3例III期横纹肌肉瘤患儿采用IEV方案。观察采集干细胞的效果。**结果** 11例患儿平均采集单个核细胞数(MNC)为 $(5.55 \pm 1.43) \times 10^8/\text{kg}$, CD34^+ 细胞数为 $(4.88 \pm 2.48) \times 10^6/\text{kg}$,动员并发症少,患儿均能耐受。10例行APBSCT后均获快速造血功能重建,其中1例NB于APBSCT后32d因合并左心衰竭死亡,余9例患儿APBSCT后60d复查外周血象稳定。**结论** CIE及IEV方案可以安全有效地完成NB及横纹肌肉瘤自体外周血干细胞动员和采集并达到移植要求。

[中国当代儿科杂志,2011,13(6):471-474]

[关键词] 动员;自体外周血干细胞;神经母细胞瘤;横纹肌肉瘤;儿童

[中图分类号] R726 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)06-0471-04

Mobilization and collection of autologous peripheral blood stem cells by CIE or IEV protocol in children with malignant solid tumors

ZHANG Yi, ZHANG Wei-Ling, HUANG Dong-Sheng, YANG Yi-Ping, LIU Xiao-Chao, WU Yi-Ping. Department of Pediatrics, Beijing Tongren Hospital of Capital Medical University, Beijing 100730, China (Huang D-S, Email:hds5180@sina.com)

Abstract: Objective Autologous peripheral blood stem cell transplantation (APBSCT) is an important method for treatment of malignant solid tumors in children. The mobilization and collection of blood stem cells is crucial for APBSCT. This study aimed to evaluate the clinical efficacy of mobilization and collection of blood stem cells by CIE or IEV chemotherapy protocol in APBSCT in children with neuroblastoma (NB) or rhabdomyosarcoma. **Methods** The protocols of CIE (cisplatin, etoposide) and IEV (vincristine, dosfamidine, etoposide) were used as mobilization chemotherapy in 8 cases of NB with stage IV and 3 cases of rhabdomyosarcoma with stage III, respectively. The results of the mobilization of blood stem cells were observed. **Results** Of the 11 cases, mononuclear cells (MNC) and CD34^+ cells were successfully collected and the volume of MNC and CD34^+ averaged $(5.55 \pm 1.43) \times 10^8/\text{kg}$ and $(4.88 \pm 2.48) \times 10^6/\text{kg}$, respectively. No severe complications were observed during the mobilization and collection. A rapid hemopoietic reconstitution was observed in 10 children after APBSCT. One with NB out of the 10 children died of left heart failure 32 days after APBSCT. Others (9 cases) showed a nearly normal result of routine peripheral blood test 60 days after APBSCT. **Conclusions** CIE or IEV protocol is effective and safe for the mobilization and collection of peripheral blood stem cells in children with NB or rhabdomyosarcoma. [Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (6):471-474]

Key words: Mobilization; Autologous peripheral blood stem cell; Neuroblastoma; Rhabdomyosarcoma; Child

目前自体外周血干细胞移植(autologous peripheral blood stem cell transplantation, APBSCT)由于具有收集方便,操作简单,排斥反应低,造血免疫功能恢复快,肿瘤细胞污染少,感染出血并发症少等特点,

越来越广泛地应用于恶性血液病及晚期实体瘤的治疗。在APBSCT的治疗中,选择最合适的动员方案,安全有效地采集足够数量的外周血干细胞(peripheral blood stem cell, PBSC)是保证移植成功

[收稿日期]2010-09-10;[修回日期]2010-10-21

[作者简介]张谊,女,硕士,主治医师。

[通信作者]黄东生,主任医师。

的重要环节。临床和基础研究均证实 APBSCT 的最佳动员方案为化疗联合造血生长因子治疗。CIE 及 IEV 化疗方案是治疗神经母细胞瘤 (neuroblastom, NB) 及横纹肌肉瘤的常规治疗方案, 由于 NB 及横纹肌肉瘤发病率较低, 因此国内外关于其移植前动员及采集自体外周血造血干细胞 (APBSC) 的相关报道较少^[1-2]。本研究总结了应用 CIE 及 IEV 方案化疗联合人重组粒细胞刺激因子 (rhG-CSF) 对儿童 NB 及横纹肌肉瘤行 APBSCT 患儿干细胞动员、采集的临床效果。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2005 年 11 月至 2010 年 6 月我科收治的 NB IV 期患儿 8 例 (男 5 例, 女 3 例), 平均年龄 5.1 岁 (2.3 ~ 7 岁); 横纹肌肉瘤 III 期患儿 3 例 (均为男童, 分别 10 岁、3 岁、14 岁)。肿瘤分期均采用“国际实体瘤分期系统 (INSS) 标准”^[3]。肿瘤性质由手术或活检后病理证实。8 例 NB 患儿移植前平均化疗 (6.1 ± 3.7) 周期, 其中 3 例仍处于进展期, 2 例达到部分缓解 (PR), 3 例处于完全缓解 (CR); 3 例横纹肌肉瘤均在常规化疗 3 ~ 4 疗程后达到 CR。动员前 11 例患儿骨髓涂片检查正常, 心、肺、肝、肾等主要脏器功能均正常。

1.2 方法

1.2.1 仪器 CS-3000 Plus 血细胞分离机 (美国 Baxter 公司), 体重小于 20 kg 患儿加用 SVCH 分离夹, 专用 SVSC 分离槽和 SVCC 收集槽, 一次性分离管道。

1.2.2 静脉导管的使用 本研究 11 例患儿中行股静脉穿刺留置双腔管 2 例, 颈静脉穿刺留置双腔管 8 例, 锁骨下穿刺留置双腔管 1 例。每次采集后用肝素液封管, 次日用 9 g/L 盐水返管后, 连接分离管道的返血和进血管路, 进行 PBSC 采集。

1.2.3 动员化疗方案 NB 患儿采用 CIE 方案动员: 第 1 ~ 4 天顺铂 50 mg/m², 第 1 ~ 3 天依托泊苷 200 mg/m²。横纹肌肉瘤患儿采用 IEV 方案^[4]动员: 第 1、8 天长春新碱 1.5 mg/m², 第 2 ~ 6 天异环磷酰胺 1.5 g/m², 第 2 ~ 6 天依托泊苷 100 mg/m²。

1.2.4 PBSC 采集 当患儿白细胞 < 2 × 10⁹/L 时, 开始每天皮下注射 rhG-CSF, 至 APBSC 采集结束前 1 d。rhG-CSF 剂量为每日 5 μg/kg。所有患儿当白细胞恢复到 5 × 10⁹/L 以上时开始采集 PBSC。循环血量为 3000 ~ 5000 mL, 体重小于 20 kg 患儿使

用儿童专用 SVCH 分离夹, 并选择儿童外周血单核细胞收集程序, 并以 100 ~ 200 mL 辐照后悬浮红细胞充盈分离管路, 全血流速自 15 mL/min, 根据患儿耐受情况, 逐渐调至 25 mL/min, 每日 1 次, 当累计采集单个核细胞 (MNC) > 0.5 × 10⁹/kg 或/和 CD34⁺ 细胞数 > 3 × 10⁶/kg 以上时结束采集。采集过程中密切观察患儿生命体征。采集的 PBSC 于 -196℃ 冻存。

1.2.5 PBSC 的解冻和回输 预处理方案选择大剂量化疗^[5]。预处理结束后 24 h 回输 PBSC, 分 2 日回输。将冷冻袋从液氮中取出立即置 39℃ 水浴中迅速解冻, 在患儿能耐受的前提下快速回输。

1.3 急性毒性反应观察

11 例接受治疗的患儿按 Bearman 标准^[6]于干细胞回输 0、+7、+14、+21、+28 d 进行包括心脏、膀胱、肾脏、肝脏、中枢神经系统、口腔及胃肠道的急性毒性反应评分, 肺脏观察至移植后 30 d。+60 d 可进行骨髓造血功能评估。

1.4 主要观察指标

APBSC 动员及采集标准: MNC > 0.5 × 10⁹/kg 或/和 CD34⁺ 细胞数 > 3 × 10⁶/kg。骨髓重建标准: 外周血白细胞 > 1.0 × 10⁹/L, 血红蛋白 (Hb) > 80 g/L, 血小板 > 20 × 10⁹/L。疗效判断: 移植后 60 d 通过复查一般情况、体格检查、原发部位影像学检查、血象、骨髓象、血清乳酸脱氢酶 (LDH) 和神经元特异性烯醇化酶 (NSE) 等指标判断为 CR、部分缓解 (PR)、无效/死亡或复发。

2 结果

2.1 动员后的血象变化

8 例患儿均于化疗后第 8 ~ 10 天 (平均 8.6 d) 出现白细胞 < 2 × 10⁹/L, 给予 rhG-CSF 5 μg/kg 刺激造血, 白细胞最低点出现于化疗后第 11 ± 1 天, 白细胞最低值为 (0.9 ± 0.4) × 10⁹/L。rhG-CSF 给药持续 7 ± 1 d。化疗后 13 ~ 19 d (平均 15.5 d) 在白细胞 > 5 × 10⁹/L 后开始采集 PBSC; 3 例横纹肌肉瘤给予 IEV 化疗后白细胞降至最低点时间分别为化疗第 10 天 (1 例) 及化疗第 12 天 (2 例), 经 rhG-CSF (每日 5 μg/kg) 动员时间分别为 5、7、8 d, 分别于化疗第 14、16、17 天时白细胞 > 5 × 10⁹/L 即开始采集 PBSC。

2.2 采集结果

11 例患儿采集 MNC (5.55 ± 1.43) × 10⁸/kg, CD34⁺ 细胞 (4.88 ± 2.48) × 10⁶/kg。其中 8 例神经

母细胞瘤采集次数为1~3次,平均1.75次,MNC为 $(5.66 \pm 1.59) \times 10^8/\text{kg}$,CD34⁺细胞为 $(4.59 \pm 2.3) \times 10^6/\text{kg}$;3例横纹肌肉瘤患儿MNC为 $(6.24、5.22、4.23) \times 10^8/\text{kg}$,CD34⁺细胞为 $(2.99、4.64、9.39) \times 10^6/\text{kg}$,台盼蓝拒染率为99.5%(99%~100%)。

2.3 APBSC 动员和采集的相关并发症

全部患儿化疗后均有Ⅱ、Ⅲ级消化道反应及Ⅲ度脱发,2例因中性粒细胞减少出现发热,感染率18%(2/11),经抗感染治疗后控制,未影响采集。采集过程中未出现低血压、面色苍白、出汗、恶心、呕吐及口周、指尖麻木、寒战等,耐受性较好。大多数患儿心率较前增加。采集后血小板变化较大,平均每次采集后血小板丢失48%(30%~55%),因此,3例患儿因病情为进展期,采集后输入辐照血小板。

2.4 移植后造血功能重建

11例患儿均进行了APBSCT,除1例进展期NB患儿因病情持续进展,多脏器衰竭于+3 d死亡。10例患儿白细胞于移植后8 d(7~10 d)降至0,血小板于移植后10 d(8~12 d)降至 $20 \times 10^9/\text{L}$ 以下。持续平均4.5 d(3~10 d)后血象开始回升,白细胞开始回升($\text{WBC} > 1.0 \times 10^9/\text{L}$,中性粒细胞绝对值 $> 0.5 \times 10^9/\text{L}$)时间为移植后10~20 d(平均14 d);血红蛋白恢复($> 80 \text{ g/L}$)的时间为移植后10~30 d(平均18 d);血小板恢复($> 20 \times 10^9/\text{L}$)时间为移植后12~35 d(平均20 d)。

2.5 疗效观察

11例患儿在采集干细胞过程中均无毒副反应,生命体征平稳。3例横纹肌肉瘤患儿行APBSCT后均获得骨髓重建且病情达到完全缓解。8例NB患儿中,1例进展期的NB患儿因病情进展多脏器衰竭于+3 d死亡;1例Ⅳ期NB患儿虽获得骨髓重建但于+32 d合并急性左心衰竭死亡;余6例于移植后+60 d复查,2例进展期NB达到PR,4例Ⅳ期NB达到CR。

3 讨论

外周血造血干细胞由于具有收集方便、肿瘤污染少、排斥反应低和造血功能恢复快、免疫重建早、感染出血并发症低的特点,已成为实体肿瘤的重要治疗方法。以往临床经验证实尽可能采集到足够数量和活力的APBSC是APBSCT成功的关键。如何选择高效低毒,采集时机容易掌握的动员方案也是众多学者关注的问题。但以往多为成人病例报道,

有关儿童动员方案报道不多。理想的动员方案应具有以下3个作用^[7]:1)动员方案本身能有效治疗肿瘤;2)动员方案有良好的动员效果,能够获得足够数量的干细胞以迅速重建造血、免疫功能;3)药物的不良反应相对少,使患儿能够安全完成动员和采集。

CIE及IEV方案是NB及横纹肌肉瘤患儿常规化疗方案,化疗力度适当,副作用少。本研究11例患儿均能耐受化疗,因中性粒细胞降低而感染发热比例为18%(2/11),抗感染治疗后均在短期内感染得到控制,未影响采集。血象变化有规律可寻,以NB为例,多在化疗后1周左右白细胞 $< 2 \times 10^9/\text{L}$,11 d左右降至最低值,而后迅速回升,刺激因子应用1周左右,采集时间通常在化疗后2周(13~19 d)。

APBSCT后造血重建的成功关键在于采集与回输足够的APBSC。目前认为干细胞体内植入的阈值为:MNC $0.5 \times 10^8/\text{kg}$,当MNC为 $3 \times 10^8/\text{kg}$ 造血功能恢复快;CD34⁺细胞应达 $1 \times 10^6/\text{kg}$,安全量应大于 $2 \times 10^6/\text{kg}$ ^[7-8]。本研究中采集MNC $(5.55 \pm 1.43) \times 10^8/\text{kg}$,CD34⁺细胞 $(4.88 \pm 2.48) \times 10^6$,采集数量和质量均达到APBSCT的要求。APBSCT后白细胞开始回升时间为移植后10~20 d,血红蛋白恢复的时间为移植后10~30 d,血小板恢复时间为移植后12~35 d,造血恢复较快,进一步证实了本动员方案采集的干细胞数量和质量良好。

APBSC动员、采集效果的影响因素很多。本研究中患儿年龄、体重大多数较低,要保证安全有效地动员采集,较成人更加困难。有报道患儿由于年龄小,血管细,多次化疗后血管脆性增加以及不配合,经常不能保证整个采集过程都畅通无阻,因而放置静脉留置导管是非常必要的^[9]。本研究11例患儿均放置了深静脉留置双腔管,减少了患儿痛苦,确保所需的血流速度,为PBSC采集顺利进行创造了有利条件。另外CS-3000 Plus血细胞分离机体外血量为200 mL左右,对于体重 $< 20 \text{ kg}$ 小儿,体外血量大于全身血量(75 mL/kg)的10%~15%,容易出现低血容量综合征^[10]。另一方面由于体外循环的是全血而回输的是生理盐水,使体内血液压积(HCT)发生变化,影响PBSC采集效果。为此,本研究中体重 $< 20 \text{ kg}$ 患儿均使用SVSC分离槽和SVCC收集槽,以减少体外血循环量。同时在初始化疗完成后使用辐照RBC悬液预先运转分离机,使儿童体内血液保持平衡,HCT没有明显变化,保障了患儿安全和PBSC采集质量。总处理血量与采集的PBSC中CD34⁺细胞多少呈正相关,与年龄也密切相关^[11]。本研究中

患儿每次循环总量为 3000 ~ 5000 mL,为其全身总血容量的 2 ~ 4 倍。除 2 例采集了 3 次,其余均经 1 ~ 2 次采集即采集到了足够的 MNC 和 CD34⁺ 细胞,达到外周干细胞移植的阈值要求,保证了 PBSCT 成功。另外,本研究中 PBSC 采集后患儿血小板变化很显著,平均每次采集血小板丢失 48%,与国外报道一致^[10]。因此,在采集过程中,尤其对于多次采集的患儿应及时补充辐照血小板,保证患儿安全。

本研究针对晚期 NB 及横纹肌肉瘤患儿进行干细胞动员及采集,过程顺利、采集结果满意,说明 CIE 及 IEV 化疗方案动员 APBSC 安全有效。患儿行 APBSCT 后 90.9% (10/11) 达到骨髓重建标准,效果满意。虽 1 例 NB 患儿因多脏器衰竭于移植后 3 d 死亡,但导致患儿死亡的主要原因为原发病病情持续进展。10 例获得骨髓重建的患儿仅 1 例 NB 患儿出现急性左心衰竭导致死亡,余 9 例(6 例 NB, 3 例横纹肌肉瘤)于移植后 60 d 复查外周血象均稳定,骨髓造血功能基本恢复,且病情达到 CR 或 PR,更进一步说明自体外周血干细胞动员、采集及移植对于缓解儿童恶性实体瘤是一种安全、有效的治疗方法。

[参 考 文 献]

[1] 冯晨,唐锁勤,王建文,刘英,杨光. CDV 与 CIE 两种方案联合术前化疗治疗晚期儿童神经母细胞瘤的近期疗效观察[J]. 中国当代儿科杂志,2009,11(11):885-887.
[2] 徐莹,唐锁勤,王建文,刘英,刘立真. 13 例小儿横纹肌疗效分析[J]. 中国当代儿科杂志,2008,10(2):163-166.

[3] Brodeur GM, Seeger RC, Barret A, Berthold F, Castleberry RP, D'Angio G, et al. International criteria for diagnosis, staging, and response to treatment in patients with neuroblastoma[J]. J Clin Oncol, 1988, 6(12): 1874-1881.
[4] 张谊,黄东生,张伟令,王一卓,朱霞,洪亮,等. 大剂量化疗结合外周血干细胞移植治疗横纹肌肉瘤疗效分析[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2010,15(3): 115-117.
[5] 黄东生,唐锁勤,王建文,刘立真,冉崇蓉,吕善根. CEM 方案预处理结合自体外周血干细胞移植治疗晚期 NB5 例观察[J]. 中国实用儿科杂志, 2004,19(9): 532-534.
[6] Bearman SI, Appelbaum FR, Buckner CD, Petersen FB, Fisher LD, Clift RA, et al. Regimen related toxicity in patients undergoing bone marrow transplantation[J]. J Clin Oncol,1988, 6(10): 1562.
[7] Balduzzi A, Perseghin P, Dassi M, Bonanomi S, Rovelli A, Gai-pa G,et al. Peripheral blood stem cell collection in children with acute leukemia: effectiveness of the 'DIAVE'. mobilizing regimen[J]. Bone Marrow Transplant, 2002, 30(7): 413-416.
[8] Tang S, Huang D, Wang J, Wei X, Ran C, Peng Y, et al. Application of autologous peripheral blood stem cell transplantation in children with malignant tumor[J]. Clin Med J (Engl), 2001, 114(10):1098-1101.
[9] Sevilla J, Plaza SF, González-Vicent M, Lassaletta A, Ramírez M, Madero L, et al. PBSC collection in extremely low weight infants: a single-center experience [J]. Cytotherapy, 2007, 9(4): 356-361.
[10] Cecyn KZ, Seber A, Ginani VC, Gonçalves AV, Caram EM, Oguro T, et al. Large-volume leukapheresis for peripheral blood progenitor cell collection in low body weight pediatric patients; a single center experience[J]. Transfus Apher Sci, 2005, 32(3): 269-274.
[11] Sevilla J, González-Vicent M, Madero L, García-Sánchez F, Angel Diaz M. Large volume leukapheresis in small children: safety profile and variables affecting peripheral blood progenitor cell collection[J]. Bone Marrow Transplant, 2003, 31(4): 263-267.

(本文编辑:俞 燕)