

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001910

红细胞裂解液对 CD34⁺ 细胞相对计数的影响 及其原因初步探讨

詹 茜, 万雪颖, 程 伟, 崔 瑾, 张阳丽, 秦 璐, 戴玉莲, 张玉洪

(重庆医科大学附属第一医院临床分子医学检测中心, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究红细胞(red blood cell, RBC)裂解液对 CD34⁺细胞相对计数的影响。**方法:**收集 101 份外周血干细胞采集物, CD34-PE 及 CD45-FITC 双色免疫荧光染色后, 分别用 FACS 裂解液(FACSTM lysing solution, FACS)、Optilyse C 裂解液(optilyse C lysing solution, Optilyse C)及自配裂解液溶解红细胞, 采用洗涤程序和运用 ISHAGE 设门策略, 检测 CD34⁺细胞、淋巴、粒、单核细胞相对数, CD45⁺细胞占全部收集信号百分比及各类细胞前向散射光(forward scatter, FSC)及侧向散射光(side scatter, SSC)信号。**结果:**比较 3 种裂解液处理后样本的 CD34⁺细胞百分比, FACS 裂解液处理的样本 CD34⁺细胞百分比最低, 自配裂解液最高(FACS vs. Optilyse C vs. 自配=0.49 ± 0.43 vs. 0.67 ± 0.50 vs. 0.73 ± 0.66, $P=0.000$)。FACS 裂解后样本 CD45⁺细胞百分比远高于 Optilyse C 及自配裂解液($t=142.500$, $P=0.000$)。3 种裂解液对淋巴细胞百分比结果($F=35.340$, $P=0.000$)具有统计学差异; 而粒细胞百分比($F=0.610$, $P=0.540$)、单核细胞百分比($F=1.590$, $P=0.210$)差异无统计学意义。FACS 裂解液处理后, CD34⁺细胞、淋巴细胞的 FSC 和 SSC 信号强度均弱于 Optilyse C 裂解液及自配的裂解液; 而粒、单核细胞的 SSC 信号, FACS 裂解液处理后最强, Optilyse C 裂解液处理后最弱。另外, 动员后的白细胞数多少与 CD34⁺细胞百分比不存在相关性($r=0.108$, $P=0.312$)。**结论:**红细胞裂解液导致 CD34⁺细胞相对计数差异的原因可能与 CD45⁺细胞比例有关, 即获取的有效细胞数; 裂解液对细胞形态的影响与造成淋巴细胞比例有显著性差异有关。鉴于不同红细胞裂解液对 CD34 等抗原阳性细胞的相对计数确实有不良影响, 因此在应用流式细胞术检测或计数时应慎重选择。

【关键词】红细胞裂解液; FACS 裂解液; Optilyse C 裂解液; CD34⁺细胞百分比

【中图分类号】R457.7

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-03-09

Influence of red blood cell lysing solution on comparative counting of CD34⁺ cells and its causes

Zhan Qian, Wan Xueying, Cheng Wei, Cui Jin, Zhang Yangli, Qin Lu, Dai Yulian, Zhang Yuhong

(Center for Clinical Molecular Medical Detection, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To analyze the influence of the red blood cell(RBC) lysing solution on the comparative counting of CD34⁺ cells.

Methods: A total of 101 peripheral blood stem cell collections were collected and stained by CD34-PE and CD45-FITC monoclonal antibodies. Then the RBCs were lysed by two commercially available lysing solutions, FACSTM lysing solution(FACS) and Optilyse C lysing solution(Optilyse C) and one self-prepared lysing solution. The washing procedure and ISHAGE gate strategy were used to detect the relative numbers of CD34⁺ cells, lymphoid cells, granulocytes, and monocytes, the percentage of CD45⁺ cells, and the various types of cell forward scatter(FSC) and side scatter(SSC) signals. **Results:** The percentage of CD34⁺ cells was the lowest in the FACS-treated samples, while the highest in self-prepared lysing solution(0.49 ± 0.43 vs. 0.67 ± 0.50 vs. 0.73 ± 0.66 , $P=0.000$). The percentage of CD45⁺ cells in the samples treated by FACS was much higher than that in the samples treated by Optilyse C and self-prepared lysing solution respectively($t=142.500$, $P=0.000$). The percentage of lymphocytes($F=35.340$, $P=0.000$) had significant differences in samples treated by the three lysates solutions respectively, however, there was no statistically significant difference for the percentage of granulocytes($F=0.610$, $P=0.540$) and monocytes($F=1.590$, $P=0.210$). After FACS treatment, the signal intensities of FSC and SSC of CD34⁺ cells and lymphocytes were weaker than those of the Optilyse C and self-prepared lysing solution treatments, while the

SSC signals of granulocytes and monocytes were the strongest after FACS lysate treatment and were the weakest after Optilyse C treatment. In addition, there was no correlation between the number of leukocytes after mobilization and the percentage of CD34⁺ cells($r=0.108$, $P=0.312$). **Conclusion:** The difference

作者介绍: 詹 茜, Email: zhanqianzz@126.com,

研究方向: 血液肿瘤的分子检测。

通信作者: 张玉洪, Email: 873254472@qq.com。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180530.1701.020.html>

(2018-05-31)

in the relative count of CD34⁺ cells caused by the RBC lysate may be related to the proportion of CD45⁺ cells, that is, the acquired efficient cell numbers. The effect of lysate on cell morphology is related to the significant difference in lymphocyte ratio. As different RBC lysates do have adverse effects on the relative counts of CD34⁺ cells, the choice of RBC lysates reagents for the flow cytometry or counting should be careful.

【Key words】red blood cell lysing solution; FACS lysing solution; optilyse C lysing solution; percentage of CD34⁺ cells

造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)是治疗急、慢性白血病,某些实体肿瘤,免疫性疾病和遗传性疾病的重要手段之一^[1]。其中,外周血造血干细胞移植(peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT)和骨髓移植(bone marrow transplant, BMT)相比,总体生存和死亡率相似,但改善无病生存率,且具有操作简便、复发少和移植速度更快等优点。近二十年来,外周血干细胞替代骨髓,成为干细胞的主要来源^[2-3]。CD34 分子限制性表达于人或哺乳动物造血干/祖细胞表面,外周血造血干细胞移植主要是基于对 CD34⁺ 抗原认识的基础上,使用一些技术来分离纯化造血干细胞用于临床治疗。并且有研究结果显示:将外周血造血干细胞应用于造血干细胞移植中,CD34⁺ 细胞剂量应按移植受者体质量保持在 $(2.5 \sim 11.0) \times 10^6$ 个/kg,可见 CD34⁺ 细胞的准确计数尤为重要^[4-5]。为判断动员效果和确定最佳采集时机、采集次数及总量,应用流式细胞术(flow cytometry, FCM)进行 CD34⁺ 细胞计数已作为造血干细胞移植的常规参考,尤其在外周血造血干细胞移植中应用甚广。

在正常骨髓中,CD34⁺ 细胞占单核细胞的 1%~4%,外周血中约为骨髓的 1/10^[6-7]。由于 CD34⁺ 细胞含量低,其百分比对微小变异因素敏感,使测定结果的准确性和重复性均较差。目前,国外的室间质量评估显示各实验室间 CD34⁺ 细胞计数存在很大差异^[8]。样本制备方法是其显著影响因素之一,国内外研究大多只强调其中的洗涤程序这一环节,对红细胞裂解液在其中的影响涉及很少。本研究采用国际上公认的 ISHAGE 设门策略^[9-10],分别以目前常用的 3 种裂解液处理,观察这 3 种裂解液对 CD34⁺ 细胞百分比及各参数的影响,并对其原因进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 临床材料

2016 年 8 月至 2017 年 4 月在重庆医科大学附属第一

医院 49 例行动员外周血干细胞采集术人员(32 例健康供者以及 17 例患者),其中 17 例患者(自体造血干细胞移植患者)包括 15 例非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL)及 2 例急性 B 淋巴细胞白血病(B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)。共收到采集物 101 份,其中来自异体造血干细胞移植供者 60 份,来自自体造血干细胞移植患者 41 份。

1.2 主要试剂

CD45-FITC 单克隆抗体(货号 A07782)、CD34-PE 单克隆抗体(货号 A07776)、同型对照 IgG1(Mouse)-PE 单克隆抗体(货号 A07796)购自 Beckman Coulter 公司;FACS 裂解液(FACS™ lysing solution, FACS)购自 Becton Dickinson 公司(货号 349202),其主要成分为二乙烯乙二醇<50%,甲醛<15%,临用时稀释 10 倍;Optilyse C 裂解液(optilyse clysing solution, Optilyse C)购自 Beckman Coulter 公司(货号 A11895),其主要成分为氯化铵和 1.5%甲醛。自配裂解液的配制:氯化铵(NH₄Cl)80 g、碳酸氢钾(KHCO₃)10.0 g、乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂)370.0 mg,溶于 1 000 mL 蒸馏水中,调节 pH 至 7.2~7.4,高压灭菌备用,临用时稀释 10 倍。

1.3 仪器

Beckman Coulter Navios 流式细胞分析仪,序列号 AV180 43,每日用 Flow-Check Pro Fluorosphere(购自 Beckman Coulter 公司,货号 A63493)进行质控。SYSMEX XE5000 血细胞分析仪,采用配套的校准品校准仪器,每日采用全血质控物(e-CHECK)3 个水平进行质控。

1.4 方法

1.4.1 标本制备 标本类型为 EDTA 抗凝的采集物(标本采集后在 2 h 内检测,最迟不超过 24 h,拒收凝血和严重溶血标本)。针对每一份样本取 6 只试管,分为 3 组,每组两管。测试管内加入 CD34-PE 抗体(5 μL)、CD45-FITC 抗体(5 μL),对照管内加入同型对照 IgG1-PE(5 μL)、CD45-FITC 抗体(5 μL)。再加入样本(5×10^5 个细胞左右),混匀,孵育 15 min。每组分别加入 3 种 500 μL 红细胞裂解液,混匀,放置 10 min。300 g 离心 5 min,弃上清,加入 500 μL PBS 洗涤,充分混匀,300 g 离心 5 min,弃上清;加入 200 μL PBS,重新悬浮细胞,上机检测。染色后标本必须室温避光放置,获取前混匀。

1.4.2 样品检测 以 ISHAGE 设门策略,分别收集 FACS、Optilyse C 和自配裂解液 3 种裂解液处理样本后的各参数值(图 1)。

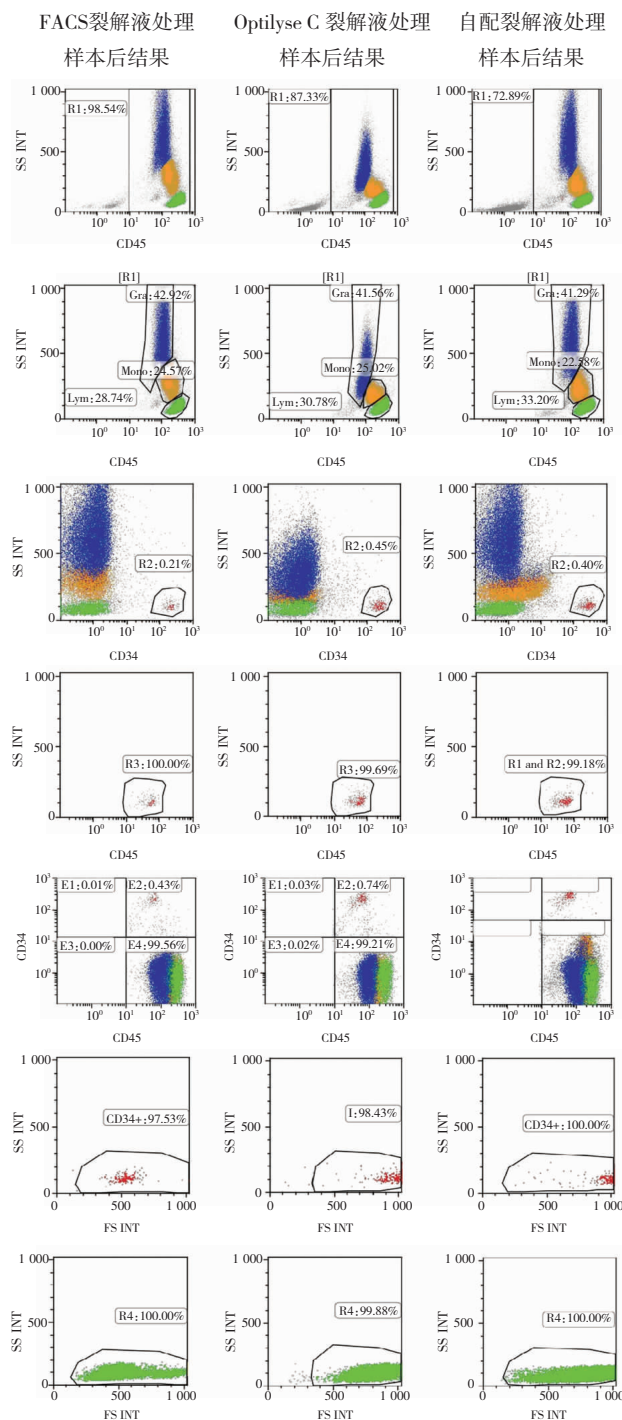


图1 典型的1例样本流式图分析

1.4.3 结果记录 流式细胞仪记录:CD34⁺占有核细胞(即CD45⁺)百分比,CD34⁺细胞(%)=测定管(%)–相应阴性对照管(%),CD45⁺细胞占全部收集信号百分比,CD34⁺、淋巴细胞前向散射光(forward scatter,FSC)平均值,CD34⁺、淋巴、粒、单核细胞侧向散射光(side scatter,SSC)平均值,淋巴、粒、单核细胞占有核细胞(即CD45⁺)百分比。SYSMEX XE5000 血细胞分析仪记录:动员后外周血(mobilized peripheral blood,MPB)中白细胞(white blood cell,WBC)、外周血造血干细胞

(peripheral blood stem cell transplantation,PBSC)中WBC的数值。

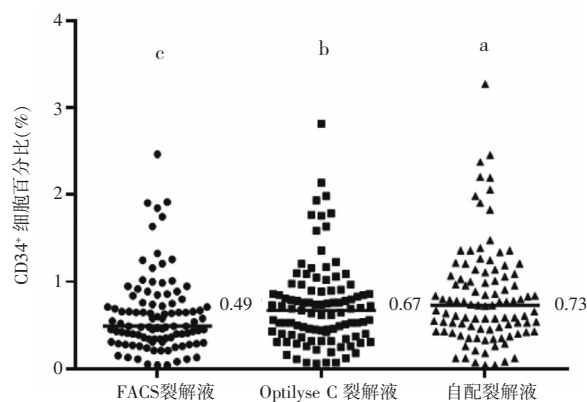
1.5 统计学处理

所有数据录入SPSS 22.0统计软件包。如果数据服从正态分布且方差齐,则使用随机区组方差分析,若有统计学差异,再进行Turkey's s多重检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。若数据不服从正态分布或方差不齐,则使用多个相关样品比较的秩和检验(即Friedman's M test),检验水准 $\alpha=0.05$;如果有显著性差异,采用调整检验水准 α 的3次相关两样本配对的Wilcoxon秩和检验。随机区组多组间两两比较, k 组样本间,检验水准 $\alpha'=\alpha/[k(k-1)/2]$,故检验水准调整为 $\alpha'=0.05/[3(3-1)/2]=0.017$ 。相关性检验采用Spearman相关分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 红细胞裂解液对CD34⁺细胞在有核细胞中百分比的影响

FACS裂解红细胞后,CD34⁺细胞在有核细胞中百分比的中位数(Median, M) $\pm$ 四分位间距(quartile range, Q) $M(Q_1,Q_3)$ 是 0.49 ± 0.43 ,Optilyse C组是 0.67 ± 0.50 ,自配裂解液(Self-prepared)组是 0.73 ± 0.66 。行Friedman's M检验,3种裂解液处理后得到的CD34⁺细胞(%)均有统计学差异($M=150,P=0.000$);再行调整检验水准 α 的3次相关两样本配对的Wilcoxon秩和检验,FACS vs. Optilyse C, $T=\min|-142.5,4608.5|=142.5,Z=-8.035,P=0.000$;Optilyse C vs. 自配, $T=\min|-270.0,4290.0|=270,Z=-7.464,P=0.000$;FACS vs. 自配, $T=\min|-13.0,4740.0|=13,Z=-8.506,P=0.000$ 。FACS对应CD34⁺细胞(%)最低,Optilyse C其次,自配氯化铵裂解液最高(图2),说明3种红细胞裂解液对CD34⁺细胞在有核细胞中百分比有影响。

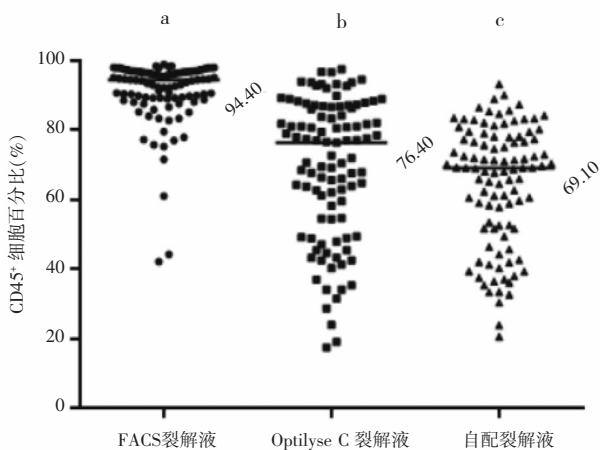


注:水平线表示每个数据集的中位数,其精确值在该行的右侧给出
a: $P<0.05$;b,c: $P<0.01$

图2 3种裂解液对CD34⁺细胞百分比的影响

2.2 红细胞裂解液对 CD45⁺细胞在全部收集信号中所占百分比的影响

3 种裂解液处理后得到的 CD45⁺细胞在有核细胞中所在百分比的 $M \pm Q$ 分别是:FACS:94.40 $\pm$ 7.65;Optilyse C:76.40 $\pm$ 32.30;自配:69.10 $\pm$ 26.40。结果显示,3 种裂解液处理后得到的 CD45⁺细胞在全部收集信号中所占百分比均有显著性差异($M=129.9, P=0.000$)(图 3),说明 3 种红细胞裂解液对 CD45⁺细胞在全部收集信号中所占百分比有影响。再行调整检验水准 α 的 3 次相关两样本配对的 Wilcoxon 秩和检验, FACS vs. Optilyse C, $T=\min|5013.5, -137.5|=137.5, Z=-8.259, P=0.000$; Optilyse C vs. 自配, $T=\min|-3736.0, 1415.0|=1415, Z=-3.931, P=0.000$; FACS vs. 自配, $T=\min|-5081.0, 70.0|=70, Z=-8.488, P=0.000$ 。



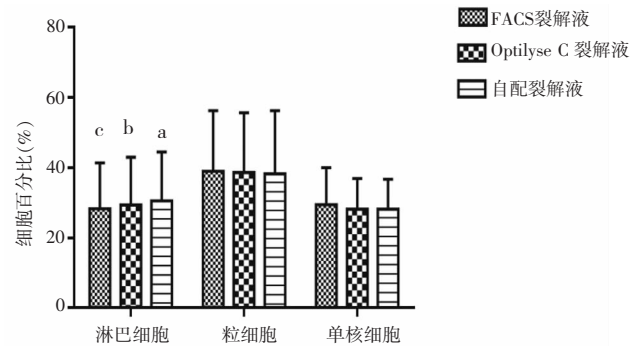
注:水平线表示每个数据集的中位数,其精确值在该行的右侧给出
a: $P < 0.05$; b, c: $P < 0.01$

图 3 3 种裂解液对 CD45⁺细胞百分比的影响

2.3 红细胞裂解液对淋巴细胞、粒细胞和单核细胞在有核细胞中所在百分比的影响

裂解液只对淋巴细胞(%)($F=35.340, P=0.000$)结果具有显著性影响。进一步行 Turkey's 多重检验, FACS vs. Optilyse C, $q=5.660, P=0.000$; Optilyse C vs. 自配, $q=6.225, P=0.000$; FACS vs. 自配, $q=11.890, P=0.000$, 而对粒细胞($F=0.610, P=$

0.540)以及单核细胞比例($F=1.590, P=0.210$)的影响差异无统计学意义(图 4)。

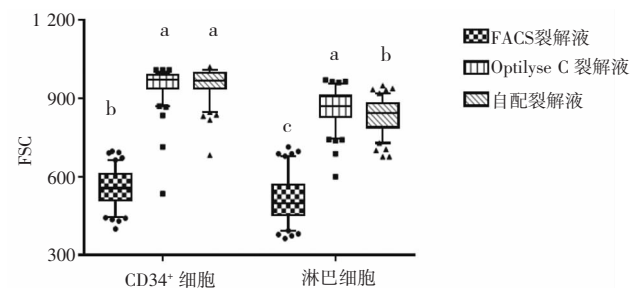


注: a, $P < 0.05$; b, c: $P < 0.01$

图 4 3 种裂解液对淋巴细胞、粒细胞和单核细胞百分比的影响

2.4 红细胞裂解液对细胞形态的影响

FSC 主要代表细胞大小, SSC 主要代表细胞内部结构, 如细胞颗粒。对各类细胞的 FSC、SSC 进行多重比较发现, 3 种裂解液对各种细胞 FSC、SSC 信号强度均有统计学差异($P=0.000$)。除 Optilyse C 和自配裂解液对 CD34⁺细胞 FSC ($q=1.112, P=0.712$)、淋巴细胞 SSC ($q=2.849, P=0.111$) 差异无统计学意义外, 其余两两比较均有统计学差异(表 1, 图 5, 图 6)。结果提示 3 种裂解液在红细胞裂解过程中对细胞形态有影响, 包括细胞大小以及细胞颗粒。



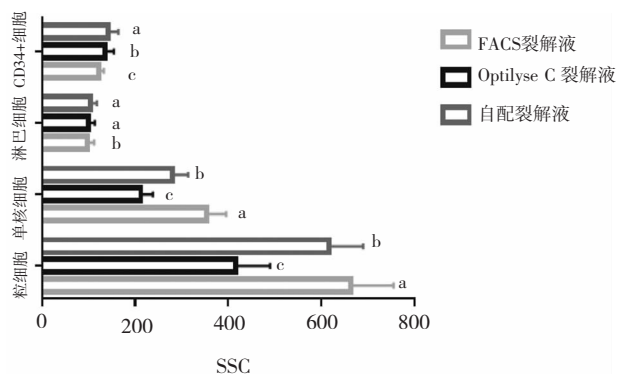
注:水平线表示每组数据的中位数;每个箱形图的条形代表每个数据集的 5%~95% 百分位数; a: $P < 0.05$; b, c: $P < 0.01$

图 5 3 种裂解液对 CD34⁺细胞和淋巴细胞 FSC 的影响

表 1 红细胞裂解液对各类细胞 FSC 和 SSC 的影响

	CD34 ⁺		lymphocyte		granulocyte	monocyte
	FSC	SSC	FSC	SSC	SSC	SSC
FACS 裂解液	558.54 $\pm$ 66.87	120.53 $\pm$ 15.68	510.59 $\pm$ 82.36	97.79 $\pm$ 14.56	663.30 $\pm$ 92.08	354.02 $\pm$ 41.95
Optilyse C 裂解液	953.96 $\pm$ 62.46	134.99 $\pm$ 22.17	867.04 $\pm$ 63.03	99.71 $\pm$ 13.76	416.36 $\pm$ 73.49	212.86 $\pm$ 25.68
自配裂解液	959.18 $\pm$ 52.41	142.56 $\pm$ 21.52	836.67 $\pm$ 61.44	103.99 $\pm$ 13.99	616.68 $\pm$ 73.17	280.08 $\pm$ 33.88
F 值	2 400.730	74.550	1162.260	22.295	575.960	1 000.869
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:检验水准 $\alpha < 0.05, n=101$ 。对各类细胞进一步用 Turkey's 多重检验进行多重比较, 结果显示除 Optilyse C 和自配裂解液对 CD34⁺FSC ($P=0.712$)、淋巴细胞 SSC ($P=0.111$) 差异无统计学意义外, 其余两两比较均有显著性差异



注:每个箱形图的条形图代表每个数据集的标准差;a: $P < 0.05$;b,c: $P < 0.01$

图 6 3 种裂解液对 CD34⁺ 细胞、淋巴细胞、粒细胞和单核细胞 4 种细胞 SSC 的影响

2.5 PBSC WBC、MPB WBC 和 CD34⁺ 细胞百分比之间的相关性

样本经 3 种裂解液裂解后,取 CD34⁺ 细胞百分比的平均值与 PBSC WBC 和 MPB WBC 两两进行相关性分析。结果显示 PBSC WBC 与 MPB WBC 成正相关。而 PBSC WBC、MPB WBC 与 CD34⁺(%)均不相关(表 2)。说明外周血和采集物中白细胞的百分比与 CD34⁺ 细胞百分比不相关。

表 2 PBSC、MPB 和 CD34⁺ 细胞百分比之间的相关性

	样本数	r_s 值	P 值
PBSC WBC 与 MPB WBC	90	0.274	0.009
PBSC WBC 与 CD34 ⁺ (%)	90	0.014	0.895
MPB WBC 与 CD34 ⁺ (%)	90	0.108	0.312

3 讨论

流式细胞仪广泛应用于 CD34⁺ 细胞检测。目前有单平台和双平台两大类方法。有研究认为单平台干细胞检测方法是首选的 CD34⁺ 细胞计数方法^[8,11]。但是,单平台法所需的分析试剂盒会受到有核红细胞或少量淋巴细胞污染且仅适用于某些类型的流式细胞仪等原因,限制其应用。同时,荧光微球的沉降、聚集以及吹打混匀过程的控制等又是其影响因素^[12]。所以国内外 CD34⁺ 细胞的检测结果可比性仍很低。对于发展中国家来说,单平台法所用试剂价格昂贵,双平台更符合发展中国家国情。双平台-ISHAGE 检测方案是 1994 年由 Sutherland 等^[13]提出。比利时、荷兰、卢森堡三国联盟九年中(1996 至 2004 年)对 CD34⁺ 细胞绝对值计数室间质控方案进行回顾性分析,共概括出 13 条影响因素。其中 5 个因素具

有显著性差异:实验室;门控策略;CD34 单克隆抗体荧光;流式细胞仪类型;样品制备方法^[8]。

本研究即利用 ISHAGE 双平台检测方案计数 CD34⁺ 相对值就样品制备方法这一影响因素中裂解液的因素进行探讨。红细胞裂解液操作简单,并可以最大限度保持原始标本的白细胞分布和形态,直到现在仍是使用最多的一种方法^[14]。本研究结果显示,CD34⁺ 占有核细胞百分比即相对计数中,FACS、Optilyse C 以及自配裂解液多重比较差异均有统计学意义。Gone 等^[15]研究结果显示自配氯化铵裂解液相较 FACS 裂解液的 CD34⁺ 百分比高近一倍,本研究也显示出一致的趋势。Menendez 等^[16]对其原因分析结果显示,无论在 BM、PBSC 中,还是 MPB 中,FACS 在裂解红细胞并运用洗涤程序后可造成 CD34⁺ 细胞的选择性丢失,主要是其中 CD34⁺/CD19⁻ 细胞丢失,而样本溶血后不进行离心、洗涤程序可基本消除这种差异,即强调 FACS 裂解液 CD34⁺ 细胞数目特异性减少与洗涤程序有关。但并未对 ISHAGE 方案中其余参数进行分析,本文针对其余参数对 CD34⁺ 细胞检测影响可能的原因做了以下分析。

针对 CD34⁺ 细胞在所有收集的信号中的百分比,FACS 裂解液处理的标本要远远高于 Optilyse C 及自配的裂解液。反映 Optilyse C 及自配的裂解液在 ISHAGE 设门策略中最初长方形的初始门中细胞碎片多于 FACS,提示 Optilyse C 及自配的裂解液的裂解强度比 FACS 要弱,作用较温和。由此推断,当获取相同数目信号的情况下,FACS 能够获取多的有效细胞数,从而对 CD34⁺ 细胞百分比检测结果造成影响。3 种裂解液处理后淋巴、粒、单核细胞所占有核细胞百分比,只有淋巴细胞的差异具有统计学意义,其结果差异与 CD34⁺ 细胞(%)变化一致。针对裂解液对淋巴细胞比例差异的原因分析,本研究分析了裂解液对细胞形态影响,3 种裂解液处理呈现出显著性差异。标本经 FACS 裂解液处理后,无论 CD34⁺ 细胞还是淋巴细胞,其 FSC、SSC 信号强度均弱于 Optilyse C 及自配的裂解液,而粒细胞和单核细胞的 SSC 信号强度均强于 Optilyse C 及自配的裂解液。同时,Optilyse C 裂解液处理后粒细胞和单核细胞的 SSC 信号强度均明显弱于 FACS 及自配的裂解液。提示 FACS 裂解液作用后各类细胞分群更清晰,能够更容易准确圈出淋巴细胞,而 Optilyse C 则

相反。运用造血干细胞与淋巴细胞细胞大小相同或更大,细胞内颗粒比淋巴细胞略多的特点,设门策略会去除掉 FSC、SSC 信号强度比淋巴细胞小的 CD34⁺ 细胞,作为 CD34⁺ 细胞最终的百分比。因此裂解液对 FSC 和 SSC 的影响,是导致各细胞群在流式图中排列紧密程度不同而造成 FACS 裂解液处理后淋巴细胞(%)小于 Optilyse C 及自配的裂解液的原因之一,从而影响 CD34 的准确计数。双平台方法进行 CD34⁺ 细胞计数另一个关键的平台是血细胞计数仪,结果显示 PBSC WBC 与 MPB WBC 成正相关,而 PBSC WBC、MPB WBC 与 CD34⁺ 细胞(%)均不相关,即 WBC 数越高并不意味着 CD34⁺ 细胞越多,这一结论与文献报道一致^[17-18]。

综上所述,FACS、Optilyse C 以及自配裂解液处理后 CD34⁺ 细胞百分比差异均有统计学意义,FACS 裂解液中位数最低,Optilyse C 其次,自配氯化铵裂解液最高。分析其原因,除了既往文献中报道的 FACS 在裂解红细胞并进行洗涤程序后可造成 CD34⁺ 细胞的选择性丢失有关。还与 3 种裂解液的裂解效应不同导致获取的有效细胞数不同;3 种裂解液在裂解过程中对淋巴细胞的细胞形态影响,从而影响淋巴细胞百分比,进而影响 CD34⁺ 百分比有关。另外,本文研究显示 PBSC WBC、MPB WBC 与 CD34⁺ 细胞(%)均不相关,这提示临床医生不能仅仅靠外周血的 WBC 来判断 CD34⁺ 细胞动员情况,应连续监测 MPB 中 CD34(%)选择峰值进行采集时机的确定更为合理。

参 考 文 献

[1] Gratwohl A, Baldomero H, Frauendorfer K, et al. Why are there regional differences in stem cell transplantation activity? An EBMT analysis[J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 42(S1): 7-10.

[2] Zhang H, Chen J, Que W. Allogeneic peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation for hematologic malignancies: meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Leuk Res, 2012, 36(4): 431-437.

[3] Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, et al. Comparison of bone marrow versus peripheral blood allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in adults—a systematic review and meta-analysis[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2015, 94(2): 179-188.

[4] Weaver CH, Hazelton B, Birch R, et al. An analysis of engraftment

kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy[J]. Blood, 1995, 86(10): 3961-3969.

[5] Remberger M, Törlén J, Ringdén O, et al. Effect of total nucleated and CD34(+) cell dose on outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2015, 21(5): 889-893.

[6] Sutherland DR, Keating A. The CD34 antigen: structure, biology, and potential clinical application[J]. J Hematother, 1992, 1(2): 115-112.

[7] Holyoake TL, Alcorn MJ. CD34⁺ positive haemopoietic cells: biology and clinical applications[J]. Blood Rev, 1994, 82(2): 113-124.

[8] Levering WH, Preijers FW, van Wieringen WN, et al. Flow cytometric CD34⁺ stem cell enumeration: lessons from nine years external quality assessment within the Benelux countries[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2007, 72(3): 178-188.

[9] Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, et al. The ISHAGE guidelines for CD34⁺ cell determination by flow cytometry[J]. J Hematother, 1996, 5(3): 213-226.

[10] Whitby A, Whitby L, Fletcher M, et al. ISHAGE protocol: are we doing it correctly?[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2012, 82(1): 9-17.

[11] Gratama JW, Kraan J, Keeney M, et al. Validation of the single-platform ISHAGE method for CD34(+) hematopoietic stem and progenitor cell enumeration in an international multicenter study[J]. Cytotherapy, 2003, 5(1): 55-65.

[12] Gutensohn K, Jessen M, Ketels A, et al. Flow cytometric analyses of CD34⁺ cells with inclusion of internal positive controls[J]. Transfusion, 2012, 52(2): 284-290.

[13] Sutherland DR, Keating A, Nayar R, et al. Sensitive detection and enumeration of CD34⁺ cells in peripheral blood and cord blood by flow cytometry[J]. Exp Hematol, 1994, 22(10): 1003-1010.

[14] Bossuyt X, Marti GE, Fleisher TA. Comparative analysis of whole blood lysis methods for flow cytometry[J]. Cytometry, 1997, 30(3): 124-133.

[15] Gone WY, Liu Y, Li B, et al. Effect of RBC lysing solution on CD34(+) cell counting[J]. J Exp Hematol, 2010, 18(3): 762-765.

[16] Menendez P, Redondo O, Rodriguez A, et al. Comparison between a lyse-and-then-wash method and a lyse-non-wash technique for the enumeration of CD34⁺ hematopoietic progenitor cells[J]. Cytometry, 1998, 34(6): 264-271.

[17] Schots R, Van Riet I, Damaens S, et al. The absolute number of circulating CD34⁺ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis[J]. Bone Marrow Transplant, 1996, 17(4): 509-515.

[18] Fontão-Wendel R, Lazar A, Melges S, et al. The absolute number of circulating CD34⁺ cells as the best predictor of peripheral hematopoietic stem cell yield[J]. J Hematother, 1999, 8(3): 255-262.

(责任编辑:张辉洁)