

• 论 著 •

环孢素联合十一酸睾酮对慢性再生障碍性贫血患者 T 辅助细胞水平的影响研究

李文静, 孙 宇, 赵田华, 侯兰芬, 王友君

(中国人民解放军白求恩国际和平医院血液科, 石家庄 050082)

摘要: 目的 研究环孢素联合十一酸睾酮对慢性再生障碍性贫血患者 T 辅助细胞水平的影响。方法 选择在该院接受治疗的慢性再生障碍性贫血患者 86 例作为研究对象, 根据患者治疗方案不同分为接受十一酸睾酮联合环孢素治疗的研究组和接受十一酸睾酮治疗的对照组, 比较 2 组患者治疗前后的血常规指标, 以及 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞含量。结果 治疗前, 2 组患者间血红蛋白含量、白细胞计数、血小板计数, 以及外周血 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞含量的比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗 2 个疗程后, 研究组患者的血红蛋白含量、白细胞计数、血小板计数均明显高于对照组。治疗 2 个疗程、4 个疗程后, 研究组患者外周血中 Th1 细胞、Th17 的含量明显低于对照组, Th2、Treg 细胞的含量明显高于对照组。结论 十一酸睾酮联合环孢素治疗能够更为有效地刺激造血、调节免疫功能及 T 淋巴细胞亚群含量, 是治疗慢性再生障碍性贫血的有效方法。

关键词: 再生障碍性贫血; 十一酸睾酮; 环孢素; T 淋巴细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.15.026

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2017)15-2088-03

Study on the effect of cyclosporine combined with eleven acid testosterone on serum

T helper cells in patients with chronic aplastic anemia

LI Wenjing, SUN Yu, ZHAO Tianhua, HOU Lanfen, WANG Youjun

(Department of Hematology, Bethune International Peace Hospital of PLA, Shijiazhuang, Hebei 050082, China)

Abstract: Objective To study the effect of cyclosporine combined with eleven acid testosterone on serum T helper cells in patients with chronic aplastic anemia. Methods A total of 86 patients with chronic aplastic anemia received treatment in our hospital were collected as the research objects, and divided into experimental group and control group, patients in the experimental group received eleven acid testosterone combined with cyclosporine therapy, patients in the control group received eleven acid testosterone therapy. Blood routine indexes, Th1, Th2, Th17 and Treg cells contents of the two groups before and after treatment were compared. Results Before treatment, hemoglobin content, leukocyte count, platelet count, peripheral blood Th1, Th2, Th17 and Treg cells contents of the two groups had no significant difference ($P > 0.05$). After two courses of treatment, hemoglobin content, leukocyte count, platelet count of the experimental group were significantly higher than those of the control group. After two courses and four courses of treatment, peripheral blood Th1 and Th17 contents of experimental group were significantly lower than those of the control group, Th2 and Treg contents were significantly higher than those of the control group. Conclusion Eleven acid testosterone combined with cyclosporine treatment could be more effective to stimulate hematopoiesis, regulate immune function and T lymphocyte subsets content, it's an effective method for the treatment of chronic aplastic anemia.

Key words: aplastic anemia; eleven acid testosterone; cyclosporine; T lymphocyte

再生障碍性贫血是一类表现为造血功能抑制、全血细胞减少的骨髓造血功能衰竭综合征, 临床症状包括贫血、感染、出血等。雄激素具有促进骨髓造血的作用, 是治疗再生障碍性贫血的最常用药物, 能够在一定程度上改善骨髓造血功能、增加全血细胞数目^[1-2]。但是, 由于雄激素治疗未能去除造成骨髓造血功能抑制的病因, 因此整体疗效并不十分理想。近年来的研究认为, 免疫功能异常、T 淋巴细胞攻击自身造血细胞是再生障碍性贫血发病的重要环节, 针对免疫功能异常进行免疫抑制治疗是疾病治疗的新方法和新思路^[3]。环孢素是临床常用的免疫抑制药物, 关于该药物联合雄激素治疗再生障碍贫血后的免疫功能情况鲜有报道^[4]。本研究分析了十一酸睾酮联合环孢素治疗慢性再生障碍性贫血的临床疗效。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2012 年 5 月至 2015 年 5 月在本院接受

治疗的慢性再生障碍性贫血患者 86 例进行研究, 纳入标准: (1)符合慢性再生障碍性贫血的诊断标准; (2)有完整的治疗前后的血常规和免疫指标检测结果; (3)取得患者及家属知情同意及医院伦理委员会批准。排除标准: (1)合并严重感染、肝肾功能不全的患者; (2)血常规资料和免疫指标资料不完整的患者; (3)不同意参与本研究的患者。根据患者治疗方案不同分为研究组和对照组。研究组 40 例患者, 接受十一酸睾酮联合环孢素治疗, 其中男 27 例, 女 13 例, 年龄 26~46 岁, 平均 (38.4 ± 4.9) 岁; 对照组 46 例患者, 接受十一酸睾酮治疗, 其中男 30 例, 女 16 例, 年龄 26~48 岁, 平均 (38.9 ± 4.4) 岁。2 组患者一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 治疗方法 研究组患者的治疗方法: 十一酸睾酮 120 mg/d, 分 3 次口服; 环孢素 5 mg/(kg · d) 分 2 次口服, 连用 4 周后调整为 4 mg/(kg · d) 维持治疗。对照组患者的治疗方

法:十一酸睾酮 120 mg/d, 分 3 次口服。2 组患者在治疗期间均定期复查血常规、肝肾功能、血糖等指标,根据指标变化情况进行对症处理和支持治疗,必要时进行抗感染,补充丙种球蛋白,成分输血,短期使用粒细胞集落刺激因子等。连续治疗 4 周为 1 个疗程。

1.3 观察指标

1.3.1 血常规指标 治疗前和治疗 2 个疗程后,采集 2 组患者的静脉外周血,采用血常规分析仪测定血红蛋白含量、白细胞计数及血小板计数。

1.3.2 免疫功能指标 治疗前和治疗 2、4 个疗程后,采集 2 组患者的外周静脉血,分离淋巴细胞后按照 $2 \mu\text{L}/\text{mL}$ 的比例加入 Cell Stimulation Cocktail 试剂激活细胞,细胞培养箱中孵育 4 h 后,取 $100 \mu\text{L}$ 激活后的细胞加入 Falcon 管中,加入 CD3-CY5、CD8-FITC 抗体孵育 15 min,洗涤后加入对应的 IFN- γ -PE、IL-4-PE、IL-17-PE 抗体孵育 15 min,洗涤后重悬细胞,并在流式细胞仪上测定 Th1、Th2、Th17 细胞比例;另取激活后的细胞,加入 CD4-FITC/CD25-PE 孵育 20 min,洗涤后加入 Foxp3-CY5 孵育 30 min,洗涤后重悬细胞,并在流式细胞仪上测定 Treg 细胞比例。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件录入数据并进行统计学处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,同组不同时间比较采用配对 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有

统计学意义。

2 结 果

2.1 血常规指标 治疗前,2 组患者间血红蛋白含量、白细胞计数、血小板计数的比较,差异无统计学意义 ($t = 3.5, 3.8, 5.3, P > 0.05$);治疗 2 个疗程后,研究组与对照组患者的血红蛋白含量、白细胞计数、血小板计数均明显高于治疗前,差异有统计学意义 ($t_{\text{研究组}} = 19.4, 18.6, 23.8, t_{\text{对照组}} = 16.3, 14.4, 19.2, P < 0.05$)。治疗 2 个疗程后,研究组血红蛋白含量、白细胞计数、血小板计数均明显高于对照组,差异有统计学意义 ($t = 31.5, 35.5, 28.6, P < 0.05$)。

2.2 Th1 及 Th2 细胞比较 治疗前,2 组患者间外周血中 Th1、Th2 细胞含量的比较,差异无统计学意义 ($t = 5.2, 3.9, P > 0.05$);治疗后 2 个疗程、4 个疗程,研究组患者外周血中 Th1 细胞的含量明显低于对照组, Th2 细胞的含量明显高于对照组,差异有统计学意义 ($t_{2\text{个疗程}} = 27.8, 34.8, t_{4\text{个疗程}} = 20.3, 29.5, P < 0.05$)。

2.3 Th17 及 Treg 细胞水平 治疗前,2 组患者间外周血中 Th17、Treg 细胞含量的比较,差异无统计学意义 ($t = 3.2, 2.9, P > 0.05$);治疗 2 个疗程、4 个疗程后,研究组患者外周血中 Th17 细胞的含量明显低于对照组,Treg 细胞的含量明显高于对照组,差异有统计学意义 ($t_{2\text{个疗程}} = 26.7, 32.5, t_{4\text{个疗程}} = 27.3, 33.4, P < 0.05$)。

表 1 2 组患者治疗前后的血常规指标比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 血红蛋白(g/L) | | 白细胞计数($\times 10^9/\text{L}$) | | 血小板计数($\times 10^9/\text{L}$) | |
|-----|----|------------------|----------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------------------|----------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 | 治疗前 | 治疗后 |
| 研究组 | 40 | 46.81 \pm 5.23 | 80.33 \pm 9.62 * # | 2.27 \pm 0.27 | 5.23 \pm 0.62 * # | 30.35 \pm 3.64 | 63.61 \pm 7.68 * # |
| 对照组 | 46 | 47.14 \pm 5.15 | 61.58 \pm 7.38 * | 2.32 \pm 0.28 | 3.92 \pm 0.41 | 30.13 \pm 3.28 | 44.13 \pm 5.46 * |

注:与同组治疗前比较, * $P < 0.05$;与同期对照组比较, # $P < 0.05$ 。

表 2 2 组患者治疗前后的外周血 Th1 及 Th2 细胞比较($\bar{x} \pm s, \%$)

| 组别 | n | Th1 细胞 | | | Th2 细胞 | | |
|-----|----|------------------|----------------------|--------------------|-----------------|---------------------|---------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 2 个疗程 | 治疗后 4 个疗程 | 治疗前 | 治疗后 2 个疗程 | 治疗后 4 个疗程 |
| 研究组 | 40 | 14.41 \pm 1.68 | 10.33 \pm 1.25 * # | 8.79 \pm 0.93 * | 0.77 \pm 0.09 | 0.94 \pm 0.10 * # | 1.25 \pm 0.14 * # |
| 对照组 | 46 | 14.64 \pm 1.59 | 13.18 \pm 1.42 * | 12.42 \pm 1.26 * | 0.73 \pm 0.07 | 0.80 \pm 0.09 * | 0.92 \pm 0.10 * |

注:与同组治疗前比较, * $P < 0.05$;与同期对照组比较, # $P < 0.05$ 。

表 3 2 组患者治疗前后的外周血 Th17 及 Treg 细胞比较($\bar{x} \pm s, \%$)

| 组别 | n | Th17 细胞 | | | Treg 细胞 | | |
|-----|----|------------------|---------------------|---------------------|-----------------|---------------------|---------------------|
| | | 治疗前 | 治疗后 2 个疗程 | 治疗后 4 个疗程 | 治疗前 | 治疗后 2 个疗程 | 治疗后 4 个疗程 |
| 研究组 | 40 | 10.39 \pm 1.26 | 7.89 \pm 0.93 * # | 5.62 \pm 0.59 * # | 1.58 \pm 0.18 | 3.42 \pm 0.44 * # | 5.27 \pm 0.62 * # |
| 对照组 | 46 | 10.78 \pm 1.08 | 9.32 \pm 1.14 * | 8.15 \pm 0.83 * | 1.64 \pm 0.15 | 2.25 \pm 0.26 * | 3.66 \pm 0.41 * |

注:与同组治疗前比较, * $P < 0.05$;与同期对照组比较, # $P < 0.05$ 。

3 讨 论

再生障碍性贫血是一类骨髓干细胞获得性疾病,其临床特征为骨髓造血功能低下、外周血中全血细胞含量减少,病理特征为具有造血功能的红骨髓组织被脂肪髓取代,造血功能受到明显抑制。促进骨髓造血及对症支持治疗是长期以来临床治

疗再生障碍性贫血的主要思路,雄激素具有明确的促进骨髓造血的功能,因而被广泛用于再生障碍性贫血的治疗^[5]。但是,由于雄激素联合对症支持方案未能从病因上对疾病进行治疗,患者治疗后的疗效差异较大,部分患者的病情反复^[6-7]。再生障碍性贫血的发病机制复杂,且尚未完全明确,免疫功能紊乱、

微血管环境变化、造血干细胞损伤均被证实与骨髓造血功能抑制有关,其中T淋巴细胞介导的免疫应答异常是造成再生障碍性贫血的重要环节^[8]。因此,抑制过度活跃的免疫应答能够改善再生障碍性贫血患者的造血微环境及骨髓的造血功能。

环孢素是临床常用的免疫抑制剂,国内汤一榕等^[9]的研究显示环孢素A联合十一酸睾酮治疗再生障碍性贫血疗效显著,患者接受联合用药方案治疗后的整体疗效优于单独用药,同时未增加不良反应的发生率,安全、可靠。但是该研究的不足之处在于未能对造血功能指标进行量化分析,也未评估免疫抑制剂治疗后的免疫功能状况。本研究采用环孢素联合十一酸睾酮的方案来治疗再生障碍性贫血,通过对治疗前后血常规指标的量化分析来反映整体疗效。由结果分析可知,无论是环孢素联合十一酸睾酮治疗,还是十一酸睾酮单药治疗后,患者的全血细胞数目均高于治疗前,这就说明两种治疗方案均能有效刺激骨髓造血;研究组治疗后的血红蛋白含量、白细胞计数、血小板计数均明显高于对照组,由此说明环孢素联合十一酸睾酮治疗刺激骨髓造血的效应优于十一酸睾酮单药治疗。

CD4⁺T淋巴细胞亚群含量异常是再生障碍性贫血患者的重要特征,免疫抑制剂治疗的价值在于抑制过度激活的免疫应答、调节免疫功能及免疫细胞含量^[10]。Th1、Th2、Th17、Treg是CD4⁺T淋巴细胞的重要亚群,具有不同的免疫调节功能^[11-12]。Th1/Th2细胞的平衡和极化是机体调控免疫应答的重要途径,Th1细胞所分泌的白细胞介素(IL)-2、IL-12、肿瘤坏死因子(TNF)- α 等细胞因子能够刺激细胞免疫应答、辅助B细胞活化和产生抗体,Th2细胞所分泌的细胞因子IL-6、IL-10、IL-13能够拮抗Th1细胞的活化^[13];Th17和Treg是新发现的一对免疫调节细胞,前者通过分泌IL-17、IL-22、IL-23来增强细胞免疫应答,后者大量表达Foxp3,并且能够抑制Th17的活化^[14-15]。已有研究证实,再生障碍性贫血患者体内CD4⁺T淋巴细胞亚群含量的变化特征为Th1、Th17功能增强,而Th2、Treg功能抑制^[16]。对治疗后患者外周血中CD4⁺T淋巴细胞亚群含量的分析发现,研究组患者外周血中Th1细胞、Th17的含量明显低于对照组,Th2、Treg细胞的含量明显高于对照组。由此证实十一酸睾酮联合环孢素治疗对CD4⁺T淋巴细胞亚群含量的调节效应更为有效,能够有效纠正免疫功能异常。

综合以上讨论可以得出结论,十一酸睾酮联合环孢素治疗能够更为有效地刺激造血、调节免疫功能及T淋巴细胞亚群含量,是治疗慢性再生障碍性贫血的有效方法。

参考文献

- [1] 朱文艳,李兰萍.环孢菌素A联合丙酸睾酮治疗慢性再生障碍性贫血的疗效分析[J].实用预防医学,2009,16(5):15-17.
- [2] 杨静.环孢素A联合十一酸睾酮治疗慢性再生障碍性贫血31例疗效观察[J].中国医药指南,2011,11(9):72-73.
- [3] 杨雪晶,张伟华,张秀莲,等.蛋白激酶C θ 在再生障碍性贫血患者外周血单个核细胞中的表达及对Th1,Tc1细胞的作用[J].中华血液学杂志,2012,33(11):951-953.
- [4] 贾晓辉.环孢素A,十一酸睾酮和黄芪注射液联合治疗再生障碍性贫血[J].临床荟萃,2012,27(7):612-613.
- [5] 赵芳,王娟,张睿.环孢菌素A对再生障碍性贫血患者骨髓细胞Fas表达及凋亡率的影响[J].中国药业,2015,24(14):56-57.
- [6] 郑文利,张广森.环孢菌素,雄激素和糖皮质激素联合治疗再生障碍性贫血54例临床分析[J].中国现代医学杂志,2010,21(13):1532-1534.
- [7] 蔡炜琳,王薇娜,张田.环孢素A联合十一酸睾酮,益生治疗再生障碍性贫血的疗效观察[J].中国医药导报,2009,6(27):56-57.
- [8] Xiao Y,Jiang J,Pang Y,et al. Efficacy and safety of mesenchymal stromal cell treatment from related donors for patients with refractory aplastic anemia[J]. Cytotherapy, 2013,15(7):760-766.
- [9] 汤一榕,黄秀娟,陈琦.环孢菌素A联合十一酸睾酮与单独十一酸睾酮治疗再生障碍性贫血的临床疗效对比[J].中国当代医药,2012,19(6):78-79.
- [10] 史月,李建平,李文倩,等.CD4⁺T细胞亚群在再生障碍性贫血中的作用及机制[J].细胞与分子免疫学杂志,2015,31(9):1287-1290.
- [11] 张涛,孙秉中,陈协群,等.Th1/Th2细胞对再生障碍性贫血CD34⁺细胞体外扩增和集落形成的影响[J].细胞与分子免疫学杂志,2006,22(3):353-359.
- [12] 戴煜,王宁玲,王敏,等.免疫抑制疗法对急性再生障碍性贫血患儿Treg/Th17细胞的影响[J].广东医学,2014,35(8):1193-1196.
- [13] 王西阁,王晓格,栾斌,等.调节性T细胞及Foxp3基因在再生障碍性贫血患儿外周血中的变化及意义[J].中国当代儿科杂志,2010,4(3):241-243.
- [14] 王敏,王宁玲,王会平,等.儿童再生障碍性贫血Th17细胞及其相关因子表达研究[J].中国小儿血液与肿瘤,2011,6(6):248-251.
- [15] 杨友卫,郑智茵,姚红章.Th17/Treg细胞失衡与再生障碍性贫血研究进展[J].中国实验血液学杂志,2012,20(1):214-218.
- [16] 尹冬梅,许洪志,张婧瑶,等.AA,MDS和AML患者CD4⁺T细胞亚群的变化及其临床意义[J].山东大学学报(医学版),2012,50(3):66-70.

(收稿日期:2017-02-22 修回日期:2017-04-22)