

# T 细胞亚群在重型再生障碍性贫血治疗中的疗效预测价值

唐旭东 张姗姗 许勇钢 杨晓红 李 柳 刘 锋 麻 柔\*

(中国中医科学院西苑医院, 北京市海淀区西苑操场 1 号, 100091)

\* 通讯作者: xyxsys@163.com, (010)62835362

**[摘要]** 目的 探讨 CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 和 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞亚群在以补肾中药联合抗淋巴细胞球蛋白/抗胸腺细胞球蛋白(ALG/ATG)为主治疗重型再生障碍性贫血(简称重型再障)中的疗效预测价值。方法 采用补肾中药联合 ALG/ATG 对 71 例重型再障患者进行治疗, 辅以环孢菌素 A、雄激素、造血生长因子等, 检查重型再障患者治疗前后 CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 和 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞亚群的免疫学指标变化。结果 重型再障经补肾中药联合 ATG/ALG 治疗后, 有效患者(59 例)的 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 较无效患者(12 例)明显升高( $P < 0.05$ ), CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T、CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 与重型再障的疗效无明显相关性( $P > 0.05$ )。经过 Kaplan-Meier 过程, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞比例  $> 7\%$  时, CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞比例  $> 3\%$  时, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞  $\leq 2.5$  时患者生存期较长( $P < 0.05$ )。结论 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 可作为重型再障疗效预测性指标, 其升高提示疗效较好; CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞比例  $> 7\%$ 、CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞比例  $> 3\%$ 、CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞  $\leq 2.5$  提示预后较好, 生存期较长。

**[关键词]** 再生障碍性贫血; 补肾; 抗淋巴细胞球蛋白/抗胸腺细胞球蛋白; T 淋巴细胞亚群; 疗效预测

Efficacy Prediction of T cell Subsets in Kidney-Supplementing Medicinal Combined with Anti-Lymphocyte Globulin/Anti-Thymocyte Globulin for Severe Aplastic Anemia

TANG Xudong, ZHANG Shanshan, XU Yonggang, YANG Xiaohong, LI Liu, LIU Feng, MA Rou

(Xiuyan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 100091)

**ABSTRACT** **Objective** To study the efficacy prediction of CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T and CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T cell subsets in kidney-supplementing medicinal combined with anti-lymphocyte globulin/anti-thymocyte globulin (ALG/ATG) for severe aplastic anemia (SAA). **Methods** Totally 71 cases of SAA were given the combo therapy of kidney-supplementing medicinal, ALG/ATG, Cyclosporin A, androgens and hematopoietic growth factors. The percentages of CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T and CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T were detected before and after treatment. **Results** The percentage of CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T was significantly increased in the effective cases after treatment ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference between the therapeutic effect and the percentage of CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T and CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T ( $P > 0.05$ ). The survival was prolonged when the percentage of CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T exceeded 7% ( $P < 0.05$ ), the percentage of CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T exceeded 3% ( $P < 0.05$ ) and CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T was less than or equal to 2.5 ( $P < 0.05$ ) after Kaplan-Meier procedure. **Conclusion** The percentage of CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T can be taken as the indicator of efficacy prediction and its exaltation suggests a better efficacy. The survival is prolonged when the percentage of CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T exceeds 7%, the percentage of CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T exceeds 3% and CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T is less than or equal to 2.5.

**Keywords** aplastic anemia; severe; kidney-supplementing; anti-lymphocyte globulin/anti-thymocyte globulin; T lymphocyte subsets; prognostic factors

重型再生障碍性贫血(简称重型再障)是一组以造血组织功能衰竭为特征的综合征。重型再障临床表现为进行性全血细胞减少, 临床伴感染、出血和严重贫血, 本病发病急、病情重、病死率高<sup>[1]</sup>。中国中医科学院西苑医院血液科从事中西医结合再障临床治疗和研究 50 余年, 自 20 世纪 90 年代初开始应用补肾中药联合抗淋巴细胞球蛋白(ALG)/抗胸腺细胞球蛋白(ATG)治疗重型再障<sup>[2]</sup>。目前认为, T 淋巴细胞介导的细胞免疫功能紊乱在重型再障发病过

程中起到重要作用<sup>[3]</sup>, 本研究探讨 CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 和 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞亚群在补肾中药联合 ALG/ATG 治疗重型再障中的疗效预测价值。现报告如下。

## 1 临床资料

### 1.1 诊断标准

西医诊断标准参照《血液病诊断及疗效标准》<sup>[4]</sup>中有关重型再障的诊断标准。中医辨证标准参照《当代中西医结合血液病学》<sup>[5]</sup>中有关标准, 辨证为

肾阴虚和肾阳虚。

## 1.2 纳入及排除标准

纳入符合以上诊断及辨证标准者,年龄 6~75 岁。排除伴有心、肝、肺、肾等器官的严重疾病者,妊娠或药物过敏者。

## 1.3 一般资料

71 例重型再障来自 1992 年 7 月至 2009 年 7 月在中国中医科学院西苑医院血液科住院的患者,其中男 43 例,女 28 例;年龄 7~73 岁,中位年龄 29 岁;病程 1~7 个月,中位病程 1.2 个月。

## 2 方法

### 2.1 治疗方法

2.1.1 ATG/ALG 治疗 根据 ATG/ALG (Genzyme Polyclonals S. A. S, 批号 C0104C02) 的不同剂量,按 2.5~30 mg/(kg·d) 的不同范围计算用药量(参考具体药物说明书),过敏试验阴性后,均连用 5 天缓慢静脉滴注。每次用药前加用地塞米松(天津金耀氨基酸有限公司,批号 0202051)5 mg,盐酸异丙嗪(北京市永康药业,批号 940904)25 mg 肌肉注射。

2.1.2 中药治疗 根据辨证分为肾阴虚和肾阳虚,治疗上兼顾健脾、活血、解毒治法。肾阴虚证基本方:生地黄 20 g,熟地黄 20 g,山萸肉 15 g,何首乌 15 g,女贞子 15 g,墨旱莲 15 g。肾阳虚证基本方:补骨脂 15 g,菟丝子 20 g,巴戟天 15 g,锁阳 10 g,淫羊藿 10 g。每日 1 剂,早晚分服,连用 6 个月为 1 个疗程,连续治疗 1~2 个疗程(或疗效已达到最理想水平判断最终疗效)。疗程结束后治疗有效患者继续原方案维持治疗至少 1 年以上。

2.1.3 辅助及支持治疗 环孢菌素 A(CsA, 华北制药股份有限公司,批号 F200003002),开始时按 6 mg/(kg·d) 口服,总疗程 6 个月以上;司坦唑醇(广西南宁百会药业集团有限公司,批号 000818)每天 6~12 mg 或十一酸睾酮胶囊(Catalent France Beinneirm S. A. 批号 060492)每天 120~240 mg,分 3 次口服,雄性激素在外周血正常后减量并维持 3 年左右;输血支持:当血红蛋白<60 g/L 时输注浓缩红细胞,血小板计数<10×10<sup>9</sup>/L 或有严重出血倾向时输注血小板。

### 2.2 实验方法

2.2.1 实验试剂及免疫学指标的选取 所用抗体均为小鼠抗人单克隆抗体,FITC、PE、PE-CY5 三色荧光直接标记。其中 CD3-FITC/HLA-DR-PE/CD25-PC5 及其相应同型对照,OptiLyse C 溶血素

均是美国 Beckman-Coulter 公司的产品。

2.2.2 标本制备与检测 所有患者入组后,在治疗前后经静脉穿刺抽取患者外周血 2 ml,EDTA 抗凝,立即混匀。用 MEK-6318 型血细胞分析仪(日本光电)进行外周血淋巴细胞计数。常规方法标记细胞,采用美国 Beckman-Coulter 公司的 EPICS-ELITE 流式细胞仪,Flow-Check 校准光路,应用三色荧光分析法,采取 FSvSS 设门,确定淋巴细胞群,分析 10 000 个细胞/样本,应用 EXPO32 软件分析结果。

### 2.3 观察指标

根据统计分析<sup>[6]</sup>选取了 CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T(%)以 7% 为分界点、CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T(%)以 3% 为分界点、CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 以 2.5% 为分界点,讨论其对有效率的预测及与生存期的关系。

### 2.4 疗效判定标准

参照《再生障碍性贫血诊断标准与疗效标准》<sup>[7]</sup>分为基本治愈(贫血和出血症状消失,血红蛋白达 120 g/L,白细胞达 4×10<sup>9</sup>/L,血小板达 100×10<sup>9</sup>/L)、缓解(贫血和出血症状消失,血红蛋白达 120 g/L,白细胞达 3.5×10<sup>9</sup>/L,血小板也有一定程度增加)、明显进步(贫血和出血症状明显好转,不输血,血红蛋白较治疗前 1 个月内常见值增长 30 g/L 以上)和无效(症状、血象未达明显进步)。

### 2.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )进行统计描述,计数资料采用频数(构成比)进行统计描述。组间均数比较采用 *t* 检验,同组治疗前后均数比较采用配对样本 *t* 检验,生存期与预后多因素分析采用 Kaplan-Meier 过程,所有统计检验均采用双侧检验。

## 3 结果

### 3.1 重型再障患者临床疗效

71 例重型再障患者,随访 1 年以上,基本治愈 30 例(42.25%),缓解 11 例(15.49%),明显进步 18 例(25.35%),无效 12 例(16.91%),总有效率为 83.09%。

### 3.2 重型再障患者 CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 和 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞亚群与疗效的关系

表 1 示,有效患者的 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 较无效患者明显升高( $P < 0.05$ ),CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T、CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 与重型再障的疗效无

明显关系( $P>0.05$ ),提示  $CD3^+CD25^+T$  可作为预测补肾中药联合 ALG/ATG 治疗重型再障的有效性的指标。

表 1 重型再障患者  $CD3^+HLA-DR^+T/CD3^+CD25^+T$  细胞亚群与疗效的关系( $\bar{x}\pm s$ )

| 免疫学指标                         | 有效(59 例)           | 无效(12 例)       |
|-------------------------------|--------------------|----------------|
| $CD3^+HLA-DR^+T(\%)$          | $13.63\pm 13.47^*$ | $5.31\pm 2.72$ |
| $CD3^+CD25^+T(\%)$            | $6.02\pm 4.61^*$   | $1.98\pm 1.68$ |
| $CD3^+HLA-DR^+T/CD3^+CD25^+T$ | $4.44\pm 4.23$     | $5.31\pm 2.72$ |

注:与无效相同免疫学指标比较,  $*P<0.05$

表 2 重型再障患者  $CD3^+HLA-DR^+T$  和  $CD3^+CD25^+T$  细胞亚群不同分界点平均值比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 免疫学指标                         | 分界点          | 例数 | 各免疫学指标的平均值         |
|-------------------------------|--------------|----|--------------------|
| $CD3^+HLA-DR^+T(\%)$          | $>7\%$       | 54 | $18.69\pm 14.11^*$ |
|                               | $\leq 7\%$   | 17 | $3.02\pm 1.81$     |
| $CD3^+CD25^+T(\%)$            | $>2.5\%$     | 56 | $7.56\pm 4.32^*$   |
|                               | $\leq 2.5\%$ | 15 | $1.43\pm 0.96$     |
| $CD3^+HLA-DR^+T/CD3^+CD25^+T$ | $>2.5$       | 47 | $8.70\pm 7.35^*$   |
|                               | $\leq 2.5$   | 24 | $1.11\pm 0.72$     |

注:与本免疫学指标低值比较,  $*P<0.01$

3.3 重型再障患者  $CD3^+HLA-DR^+T$  和  $CD3^+CD25^+T$  细胞亚群不同分界点平均值比较

表 2 示,  $CD3^+HLA-DR^+T$  以  $7\%$ 、 $CD3^+CD25^+T$  以  $2.5\%$  为分界点、 $CD3^+HLA-DR^+T/CD3^+CD25^+T$  以  $2.5$  为分界点,差异均具有统计学意义( $P<0.01$ )。

3.4 重型再障患者  $CD3^+HLA-DR^+T$  以  $7\%$ 、 $CD3^+CD25^+T$  以  $2.5\%$ 、 $CD3^+HLA-DR^+T/CD3^+CD25^+T$  以  $2.5$  分组后与生存期的关系

图 1 示,经过 Kaplan-Meier 过程,  $CD3^+HLA-DR^+T$  细胞比例  $>7\%$  时,  $CD3^+CD25^+T$  细胞比

例  $>2.5\%$  时,  $CD3^+HLA-DR^+T/CD3^+CD25^+T$  细胞  $\leq 2.5$  时患者生存期较长( $P<0.05$ )。

4 讨论

目前研究认为,重型再障的主要病理机制是 T 细胞功能亢进引起的造血组织损伤<sup>[8-9]</sup>。重型再障患者 T 淋巴细胞处于激活状态,细胞毒性 T 细胞(CTL)即  $CD8^+T$  细胞明显增多。 $CD8^+T$  是 CTL 亚群,其增多表示免疫抑制。 $CD3^+CD25^+T$  细胞是 CTL 的主要细胞之一,HLA-DR 也是淋巴细胞活化的重要标志之一。免疫介导抑制性 T 细胞活化和增殖,使抑制性细胞因子产生增加,从而抑制造血,这是目前重型再障发病的主要机制<sup>[10]</sup>。

古代医籍中没有重型再障病名,但自《黄帝内经》起就有很多以苍白、出血、发热为主要表现的病症描述,张仲景在《金匱要略》中首次提出“虚劳”这一病名。重型再障病程长,其病机与心、肝、脾、肾等脏腑有关,尤其与肾的关系最为密切,病机关键在于“肾虚”。以补肾为核心的中医药治疗再障的研究始于 20 世纪 60 年代,重型再障按中医辨证多为急劳髓枯温热型,多预后凶险,符合中医“阳虚易治,阴虚难调”之说。而本病起病急,预后较差,与毒邪外犯致病息息相关。药物、化学、物理因素、病毒等毒邪外犯,邪入骨髓,燔灼精髓,精耗髓伤则精血化生乏源;同时煎灼营血,伤络动血,耗气伤阴,致脏腑失调,肾失生髓之功。因急劳髓枯型温热型起病迅猛,用药寒凉则伤中气,不利气血化生,补益又恐留邪,治疗上较为棘手,且病情变化多端,可演变为肾阳虚型或者肾阴虚型。因此,分阶段辨证治疗显得尤为重要,多选用补肾阳药与清热解毒药,联合 ATG/ALG 治疗重型再障。

补肾中药联合 ATG/ALG 治疗重型再障,得益

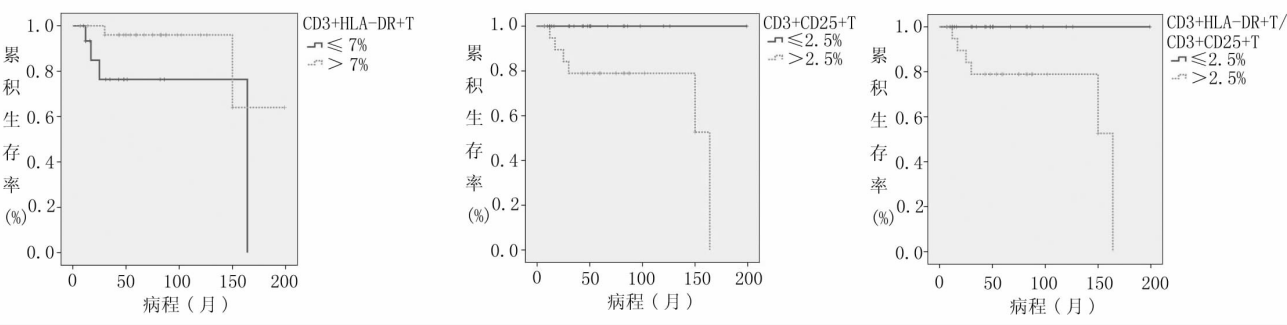


图 1 重型再障患者  $CD3^+HLA-DR^+T$  和  $CD3^+CD25^+T$  细胞亚群的变化与生存期的关系

注:图中“+”代表不同组别内的各个具体值

于 ATG/ALG 对危重患者的抢救和补肾中药益精填髓的固本作用,药理学研究也提示补肾中药具有类似于 ATG/ALG 的免疫抑制作用。对于 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 和 CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞亚群的致再障免疫学机理的很多研究发现,不同免疫学指标在再障的发展过程中表现不同<sup>[11]</sup>。本研究发现,CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 和 CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞亚群不但与重型再障发病机制紧密相关,也对疗效有预测作用,CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 可作为预测补肾中药联合 ALG/ATG 治疗有效性指标,CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞比例 > 7%、CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞比例 > 3%、CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞 ≤ 2.5 时患者生存期较长,在指导临床治疗上有较大的应用价值。

### 参考文献

- [1] 麻柔. 免疫介导的造血抑制与骨髓衰竭[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(3): 334-336.
- [2] 唐旭东, 刘锋, 李柳, 等. 补肾中药联合 ATG/ALG 治疗重型再生障碍性贫血预后因素分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 250-254.
- [3] Nakao S, Feng X, Sugimori C. Immune pathophysiology of aplastic anemia[J]. Int J Hematol, 2005, 82(3): 196-200.
- [4] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007: 19-23.
- [5] 邓成珊, 周霭祥. 当代中西医结合血液病学[M]. 北京: 中国中医药科技出版社, 1996: 68.
- [6] 唐旭东, 张姗姗, 麻柔, 等. 再生障碍性贫血选用免疫抑制剂或雄激素治疗预测指标的初步研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(2): 106-110.
- [7] 中华血液学会第四届全国再生障碍性贫血学术会议纪要. 再生障碍性贫血诊断标准与疗效标准[J]. 中华血液学杂志, 1987, 8(8): 486, 封 4.
- [8] Sauntharajah Y, Nakamura R, Nam JM, et al. HLA-DR15(DR2) is over represented in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia and predicts a response to immunosuppression in myelodysplastic syndrome [J]. Blood, 2002, 100(5): 1570-1574.
- [9] Oguz FS, Yalman N, Diler AS, et al. HLA-DRBI\* 15 and pediatric aplastic anemia[J]. Haematologica, 2002, 87(7): 772-774.
- [10] Lopez-karpovitch X, Zarzosa ME, Cardeuas MR, et al. Changes in peripleral blood mononucleacer cell subpopulations during antithymocyte globulin therapy for severe aplastic anemia[J]. Acta Haematol, 1989, 81(4): 176-180.
- [11] 唐旭东, 麻柔, 刘锋, 等. 再生障碍性贫血 CD45RA/RO 的表达与中医辨证分型的相关性研究[J]. 中医杂志, 2006, 47(3): 212-214.

(收稿日期: 2013-05-17; 修回日期: 2013-07-05)

[编辑: 叶晨]

## 2013 年国家中医药继续教育项目基层医生手穴诊疗培训班通知

为发掘民族瑰宝、弘扬中医精粹,满足广大基层医生对中医特色诊疗的需求,世界针灸学会联合会世针针灸交流中心将于 2013 年 11 月 21 日—24 日在北京举办国家中医药继续教育项目“基层医生手穴诊疗培训班”。由中国人体健康科技促进会医药科技专业委员会副主任委员、中国老年教授协会医药专业委员会手诊分会副会长、江苏省常州市手穴诊疗研究所所长刘浩兴主讲“望诊、触诊、压诊”的手穴诊疗方法。

1. 该法以中医整体观念为基石,融西医组织解剖理论,结合中医“四诊”察病智慧与经络腧穴治病经验,创造性的将中医整体理论运用于手诊,可概知家族遗传性疾病和自身健康状况,鉴别诊断多种疑难病症,方法独特,在临床有较高的实用价值。该手诊方法直观明了、易学易用,为广大医务工作者诊病寻根、治病求本、治未病提供了新思路、新方法,尤其适用于基层。

2. 学费 1200 元(含培训费、资料费等,同一地区同时 4 人以上参加,学费每人 1000 元)。学期 3 天,交通、食宿费用自理,会务组可协助安排食宿事宜。学习经考核合格颁发结业证书和国家 I 类继续教育学分 12 分。欲学习者请于 11 月 15 日前报名,并附身份证复印件(通讯地址、单位、邮政编码、联系电话、邮箱等)。

### 3. 回执地址与联系方式

①北京市朝阳区小营路 19 号财富嘉园 A 座 301 室《世界中医药》杂志社。邮编:100101。邮箱:13901318403@139.com。手机:13901318403。电话/传真:(010)58239066。联系人:王炳岐、徐晖、赵和爱。

②北京东城区广渠门内夕照寺大街东玖大厦 B 座 7 层,世界针灸学会联合会世针针灸交流中心。邮编:100061。电话:(010)87190518。邮箱:info@wfas-acu.org。手机:13051608026。联系人:邓爱英。

4. 培训地点与住宿:培训地点:世界针灸学会联合会世针针灸交流中心 701 会议室;住宿地点:绿景苑宾馆(距世界针灸交流中心 100 米)90 元/床/天。乘车路线:从西客站乘 52 路、从北京站乘 52、29、674 路,从北京南站乘特 12 路外环或乘 84 路。乘飞机者从首都机场乘机场巴士到三元桥乘城铁 10 号线在双井下车(出 A 口)至双井桥西坐 715 路到广渠门内下车。凡乘以上各路公交车者均到广渠门站下车,向西到“夕照寺大街东玖大厦 B 座 701 室”报到。