

利妥昔单抗对自身免疫性溶血性贫血患者外周血 Th1/Th2、Th3/Tr1 细胞的影响

陶书超¹

[摘要] 目的:探讨利妥昔单抗对自身免疫性溶血性贫血患者外周血 Th1/Th2、Th3/Tr1 细胞的影响。方法:以 2017-06—2018-06 收治的 76 例自身免疫性溶血性贫血患者为对象,按电脑数字表法随机分为 2 组,每组各 38 例,对照组予以常规治疗,试验组在常规治疗基础上予以利妥昔单抗治疗,对比 2 组疗效及外周血 Th1/Th2、Th3/Tr1 细胞情况。结果:治疗后,试验组 Th1/Th2 较对照组低,Th3/Tr1 相关细胞(白细胞介素 10、转化生长因子- β 1)较对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);治疗后,试验组血红蛋白较对照组高,网织红细胞、总胆红素较对照组低,差异有统计学意义($P < 0.05$);试验组总有效率(84.74%)较对照组(76.32%)高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:利妥昔单抗可有效改善自身免疫性溶血性贫血患者外周血 Th1/Th2、Th3/Tr1 细胞及相关血清学指标,进而提升临床疗效。

[关键词] 利妥昔单抗;自身免疫性溶血性贫血;治疗;Th1/Th2;Th3/Tr1

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.10.020

[中图分类号] R556 **[文献标志码]** A

Influence of rituximab on Th1/Th2, Th3/Tr1 cells of patients with autoimmune hemolytic anemia

TAO Shuchao

(Department of Blood Transfusion, Zaoyang First People's Hospital, Zaoyang, 441299, China)

Corresponding author: TAO Shuchao, E-mail: 452510985@qq.com

Abstract Objective: To investigate the influence of rituximab on Th1/Th2, Th3/Tr1 cells of the patients with autoimmune hemolytic anemia. **Method:** A total of 76 patients with autoimmune hemolytic anemia were admitted to our hospital from June 2017 to June 2018 as the objects, according to the computer digital table method, these patients were randomly divided into two groups, each with 38 patients. The control group received routine treatment, and the experimental group received rituximab on the basis of conventional treatment. The efficacy and the peripheral blood Th1/Th2, Th3/Tr1 cells were compared between the two groups. **Result:** After treatment, the Th1/Th2 in the experimental group was lower than that in the control group, and the Th3/Tr1 related cells (including interleukin-10 and transforming growth factor- β 1) were higher than those of the control group, with statistically significant ($P < 0.05$). After treatment, the hemoglobin of the experimental group was higher than that of the

¹ 枣阳市第一人民医院输血科(湖北枣阳, 441299)

通信作者:陶书超, E-mail: 452510985@qq.com

延迟原因,指导优化流程,制定不同项目的 TAT 限值,实现缩短各检验项目的全程 TAT,达到有效提高实验室检测质量和服务水平的目的。

参考文献

- [1] 奚经巧,潘愉扬,叶瑾,等.基于 LIS 缩短住院检验标本周转时间的研究[J].医院管理论坛,2018,35(6):78-80.
- [2] 张丽娜,谷峰,董振南,等.急诊生化检测样本周转时间分析与改进[J].中国卫生质量管理,2014,21(6):39-41.
- [3] 申春梅,贺乐奇.急诊生化报告周转时间监测与分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(3):429-430.
- [4] 刘遵建,林萍. ISO15189 质量管理体系下急诊生化标本周转时间持续改进及分析[J].国际检验医学杂志,2017,38(19):2787-2789.
- [5] 李光权,周卫东,李隆勇,等. TAT 统计分析对提高临床实验室运行效率的作用[J].现代检验医学杂志,2015,28(6):112-114.
- [6] 黎海生,熊林怡,张鸿伟,等.急诊检验报告周转时间的实时监控及持续改进[J].重庆医学,2016,45(8):1128-1131.
- [7] Chauhan KP, Trivedi AP, Patel D, et al. Monitoring and root cause analysis of clinical biochemistry turnaround time at an academic hospital[J]. Ind J Clin Biochem, 2014, 29:505-509.
- [8] 王志国.临床检验质量控制技术[M].3 版.人民卫生出版社,2014:116-120.
- [9] 冯强,陈皓,李惠娟,等.门诊血常规标本周转时间分析与改进[J].泰山医学院学报,2015,36(3):293-294.
- [10] Steindel SJ, Howanitz PJ. Physician satisfaction and emergency department laboratory test turnaround time[J]. Arch Pathol Lab Med, 2001, 125:863-871.
- [11] 胡江红,王开正,周明术,等.条形码技术全程监控血液标本检测过程分析[J].临床检验杂志,2014,32(12):889-891.

(收稿日期:2019-03-01)

control group, while the reticulocytes and total bilirubin were lower than those of the control group, with statistically significant ($P < 0.05$). The total effective rate of the experimental group was 84.74%, which was higher than that of the control group (76.32%), with statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Rituximab can effectively improve Th1/Th2, Th3/Tr1 cells and related serological markers in peripheral blood of patients with autoimmune hemolytic anemia, and improve clinical efficacy.

Key words rituximab; autoimmune hemolytic anemia; treatment; Th1/Th2; Th3/Tr1

自身免疫性溶血性贫血是常见免疫性血液疾病的一种,在贫血中约占 33.33%,发病机制主要为免疫调节系统紊乱、B 淋巴细胞功能亢进等导致的自身红细胞抗体产生。当前,临床上主要通过药物对自身免疫性溶血性贫血展开治疗,常用药物为免疫抑制剂、糖皮质激素、丙种球蛋白等,并配合输血,但效果不够理想,患者病情容易复发^[1]。近年来,利妥昔单抗逐渐被广泛应用于自身免疫性溶血性贫血治疗中,此药物属于单克隆抗体的一种,能够与 B 淋巴细胞表面的 CD20 抗原进行特异性结合,对 B 淋巴细胞进行清除,进而缓解病情,且患者耐受性良好^[2]。为进一步对自身免疫性溶血性贫血治疗中利妥昔单抗的应用效果进行探讨,此次研究将收治的 78 例患者分作 2 组,分别行常规治疗和常规治疗联合利妥昔单抗治疗,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2017-06—2018-06 我院收治的自身免疫性溶血性贫血患者 76 例,随机分为 2 组(按电脑数字表法)。对照组 38 例,男 18 例(47.37%),女 20 例(52.63%);年龄 22~74 岁,平均(48.12±4.37)岁;26 例为温抗体自身免疫性溶血性贫血,12 例为冷凝集素病。试验组 38 例,男 17 例(44.74%),女 21 例(55.26%);年龄 23~74 岁,平均(48.53±4.39)岁;27 例为温抗体自身免疫性溶血性贫血,11 例为冷凝集素病。此次研究已通过本院医学伦理会审批,2 组患者基本信息比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:①经《自身免疫性溶血性贫血诊断与治疗中国专家共识(2017 年版)》^[4]中关于自身免疫性溶血性贫血诊断标准确诊者;②近 3 个月未接受过输血者;③耐受利妥昔单抗治疗者;④自愿参与研究并已配合进行签字者。

排除标准:①合并其他严重器官、系统疾病者;②近 3 个月内接受过手术治疗者;③存在严重感染者;④无法配合完成研究者。

1.3 方法

对照组进行常规治疗:予以泼尼松片 1.5 mg/kg,口服,1 次/d,持续 2 周,随后减少剂量为 0.75 mg/kg,口服,1 次/d,持续 1 周,再次降低剂量为 0.5 mg/kg,口服,1 次/d,共服用 4 周;以环孢素 A

3 mg/kg,口服,1 次/d,持续 4 周;叶酸片 5 mg,口服,1 次/d,持续 4 周。

试验组在对照组的基础上予以利妥昔单抗治疗:375 mg/m²,静脉滴注,1 次/周,共治疗 4 次。

1.4 观察指标

1.4.1 Th1/Th2、Th3/Tr1 细胞 治疗前和疗程结束后,分别采集 2 组空腹静脉血液标本 2 ml,常规离心处理后,通过流式细胞仪测定 2 组 Th1、Th2 细胞,计算 Th1/Th2,并通过酶联免疫吸附法测定 Th3/Tr1 细胞相关因子,包括白细胞介素 10 (interleukin-10, IL-10)、转化生长因子-β1 (transforming growth factor-β1, TGF-β1)。

1.4.2 相关血清学指标 治疗前和疗程结束后,分别采集 2 组空腹静脉血液标本 2 ml,常规离心处理后,全血细胞分析仪测定血红蛋白(hemoglobin, HGB)、网织红细胞(Reticulocyte, Rtc)和总胆红素(total bilirubin, TBil)。

1.4.3 疗效 治疗 4 周后,判定 2 组疗效^[4-5]: HGB 水平恢复正常完全缓解;男性 HGB 为 80~120 g/L,女性 HGB 为 80~110 g/L 为部分缓解;患者 HGB 水平无明显变化为无缓解;治疗后 12 个月内出现再次溶血为复发。总有效率通过完全缓解率+部分缓解率计算。

1.5 统计学分析

研究数据以 SPSS 20.0 处理,计量资料 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验;计数资料例(%)表示, χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Th1/Th2 及 Th3/Tr1 细胞

治疗前,2 组 Th1/Th2、IL-10、TGF-β1 差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,2 组 Th1/Th2 均下降,且试验组较低,IL-10、TGF-β1 均提升,且试验组较高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 相关血清学指标

治疗前 2 组 HGB、Rtc、TBil 差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后 2 组 HGB 均上升,且试验组较高,Rtc、TBil 均下降,且试验组较低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.3 疗效

试验组总有效率较对照组高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 1 2 组治疗前后 Th1/Th2 及 Th3/Tr1 细胞比较

 $\bar{x} \pm s$

组别	Th1/Th2/%		<i>t</i>	<i>P</i>	IL-10/(pg · ml ⁻¹)		<i>t</i>	<i>P</i>	TGF-β1/(pg · ml ⁻¹)		<i>t</i>	<i>P</i>
	治疗前	治疗后			治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
对照组	56.35±1.28	52.86±1.13 ¹⁾	22.547	0.000	30.22±2.13	34.42±1.41 ¹⁾	26.994	0.000	171.27±2.15	213.45±1.28 ¹⁾	35.669	0.000
试验组	56.36±1.27	49.13±1.11 ¹⁾²⁾	26.632	0.000	30.23±2.14	41.29±1.12 ¹⁾²⁾	31.013	0.000	171.26±2.14	252.15±1.10 ¹⁾²⁾	40.746	0.000
<i>t</i> 值	-0.341	17.989	—	—	-0.035	21.447	—	—	0.028	29.205	—	—
<i>P</i> 值	0.782	0.000	—	—	0.747	0.000	—	—	0.493	0.000	—	—

与治疗前比较,¹⁾ $P < 0.05$;与对照组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 2 组治疗前后相关血清学指标比较

 $\bar{x} \pm s$

组别	HGB/(g · L ⁻¹)		<i>t</i>	<i>P</i>	Rtc/(×10 ⁹ · L ⁻¹)		<i>t</i>	<i>P</i>	TBil/(μmol · L ⁻¹)		<i>t</i>	<i>P</i>
	治疗前	治疗后			治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
对照组	75.75±1.52	96.76±1.64 ¹⁾	25.215	0.000	235.45±2.36	125.86±1.24 ¹⁾	33.160	0.000	38.09±1.13	19.29±1.11 ¹⁾	22.643	0.000
试验组	75.76±1.53	110.18±1.38 ¹⁾²⁾	29.468	0.000	235.46±2.35	93.25±1.21 ¹⁾²⁾	38.154	0.000	38.09±1.12	12.58±1.20 ¹⁾²⁾	26.042	0.000
<i>t</i>	-0.346	23.753	—	—	-0.034	28.563	—	—	0.027	19.762	—	—
<i>P</i>	0.832	0.000	—	—	0.569	0.000	—	—	0.489	0.000	—	—

与治疗前比较,¹⁾ $P < 0.05$;与对照组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

表 3 2 组临床疗效比较

例(%)

组别	例数	疗效				总有效率
		完全缓解	部分缓解	无缓解	复发	
对照组	38	11(28.95)	18(47.37)	6(15.79)	3(7.89)	29(76.32)
试验组	38	22(57.89)	14(36.84)	1(2.63)	1(2.63)	36(94.74) ¹⁾
χ^2	—	—	—	—	—	5.208
<i>P</i>	—	—	—	—	—	0.022

与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

自身免疫性溶血性贫血是常见免疫性疾病的一种,发病后患者免疫功能、B 淋巴细胞功能均处于紊乱状态,可导致大量红细胞抗体、补体产生,并对红细胞膜产生作用,使红细胞被破坏。相关报道显示,通过常规方法对自身免疫性溶血性贫血展开治疗时,5 年疾病缓解率仅为 20.0%~60.0%,且复发多发生于治疗后 13 个月内^[6]。对于长期治疗无效的患者,临床上多会选择脾切除术,虽可提升疾病缓解率至 32.0%~82.0%,但创伤大、并发症多。

近年来,关于自身免疫性溶血性贫血发生机制的研究不断深入,T、B 淋巴细胞在此病发生、进展中的作用已得到临床证实,对此,临床上逐渐从调节 T、B 淋巴细胞方面对此病展开治疗^[7]。利妥昔单抗是常用 CD20 单克隆抗体的一种,通过与 B 细胞表面 CD20 抗原进行结合,可对 B 细胞进行清除,并使存在破坏性的自身抗体减少,进而达到调节免疫功能的效果^[8]。有研究(高清妍 2017)通过

利妥昔单抗对难治性/复发性自身免疫性溶血性贫血展开治疗,发现治疗后患者病情显著改善。本次研究将利妥昔单抗应用于自身免疫性溶血性贫血治疗中,效果显著。

本次研究结果显示,可有效改善 Th1/Th2、Th3/Tr1 细胞。治疗后试验组 Th1/Th2 是(49.13±1.11)%,较对照组的(52.86±1.13)%低,Th3/Tr1 细胞相关因子 IL-10 是(41.29±1.12)pg/ml,TGF-β1 是(252.15±1.10)pg/ml,分别较对照组的(34.42±1.41)pg/ml、(213.45±1.28)pg/ml 高,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示相较于常规治疗,于常规治疗基础上予以自身免疫性溶血性贫血患者利妥昔单抗治疗有更有助于对患者 Th1/Th2、Th3/Tr1 细胞进行改善。Th1、Th2、Th3、Tr1 均为常见 CD4⁺T 细胞亚群,Th1 主要对促进细胞免疫的细胞因子及激活巨噬细胞、细胞毒 T 细胞等细胞因子进行分泌,Th2 主要对促进体液免疫反应的细胞因子进行分泌,Th3 主要分泌介导免疫应答反应的细胞因子,Tr1 主要抑制 Th1 分泌激

活巨噬细胞、细胞毒 T 细胞等细胞因子, Th1/Th2、Th3/Tr1 平衡状态与多种免疫疾病有关, 自身免疫性溶血性贫血患者 Th1/Th2、Th3/Tr1 存在明显失衡^[9-10]。而通过利妥昔单抗对此病展开治疗时, 药物与 B 细胞表面的 CD20 抗原结合后, 可对 B 淋巴细胞增殖产生抑制作用, 使自身抗体减少, 并上调 T 淋巴细胞, 进而使 Th1/Th2、Th3/Tr1 之间的平衡状态得以恢复, 改善患者免疫功能。

本次研究结果还显示可有效改善相关血清学指标。治疗后试验组 HGB 较对照组高, Rtc、TBil 较对照组低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示与常规治疗相比, 于常规治疗基础上对自身免疫性溶血性贫血实施利妥昔单抗治疗可进一步改善患者 HGB、Rtc、TBil。通过利妥昔单抗对自身免疫性溶血性贫血展开治疗时, 可对 B 淋巴细胞进行调理, 使效应细胞与自身抗体复合物脱离, 如单核细胞、巨噬细胞, 促进免疫反应正常化改变, 有效缓解患者贫血、溶血症状, 进而达到改善 HGB、Rtc、TBil 的效果^[11-12]。

本次研究发现试验组总有效率较对照组高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示对自身免疫性溶血性贫血实施治疗时, 在常规治疗基础上予以利妥昔单抗可进一步提升有效率。利妥昔单抗可对自身免疫性溶血性贫血患者免疫功能进行有效改善, 减轻免疫功能紊乱对病情的促进作用, 使患者相关症状缓解, 进而达到提升疗效的效果。

综上所述, 自身免疫性溶血性贫血通过利妥昔单抗治疗可有效改善改善 Th1/Th2、Th3/Tr1 细胞及相关血清学指标, 进而提升疗效。但此次研究存在样本量较小、随访时间较短等不足, 需展开进一步研究, 以探讨自身免疫性溶血性贫血通过利妥昔单抗治疗的临床价值。

参考文献

- [1] Narurkar R, Mamorskadyga A, Nelson JC, et al. Autoimmune hemolytic anemia associated with babesiosis[J]. Biomark Res, 2017, 5: 14-14.
- [2] 陈苗, 庄俊玲. 低剂量利妥昔单抗治疗温抗体型自身免疫性溶血性贫血的系统评价[J]. 基础医学与临床, 2017, 37(10): 1444-1448.
- [3] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 自身免疫性溶血性贫血诊断与治疗中国专家共识(2017年版)[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(4): 265-267.
- [4] 苏万祥. 不同输血方法在自身免疫性溶血性贫血患者中的应用分析[J]. 临床检验杂志(电子版), 2017, 6(3): 76-77.
- [5] 黎海江, 冯学冠, 符晓玲, 等. 血液置换联合洗涤红细胞输注对自身免疫性溶血性贫血患者的治疗效果[J]. 山东医药, 2018, 58(13): 90-92.
- [6] Ogawa K, Ito J, Fujimoto D, et al. Exacerbation of autoimmune hemolytic anemia induced by the first dose of programmed death-1 inhibitor pembrolizumab: a case report[J]. Invest New Drugs, 2018, 36: 1-4.
- [7] 曲莹莹, 邢莉民, 邵宗鸿. T 淋巴细胞在自身免疫性溶血性贫血发病机制中的作用[J]. 国际输血及血液学杂志, 2017, 40(5): 450-454.
- [8] 金伟媚, 江锦红, 方炳木. 利妥昔单抗联合常规治疗自身免疫性溶血性贫血的疗效观察[J]. 药物流行病学杂志, 2017, 13(4): 9-12.
- [9] 邢莉民, 徐文艳, 段宁宁, 等. 自身免疫性溶血性贫血/Evans 综合征患者外周血 CD4+CD69+ T 细胞的临床意义[J]. 中华内科杂志, 2018, 57(9): 656-660.
- [10] Yoshida M, Marumo Y, Naitoh I, et al. Autoimmune Hemolytic Anemia Obscured by the Obstructive Jaundice Associated with IgG4-related Sclerosing Cholangitis in a Patient with Type 1 Autoimmune Pancreatitis: A Case Report and Review of the Literature[J]. Intern Med, 2018, 57: 1725-1732.
- [11] 陈艳欣, 郑晓云, 刘庭波, 等. 利妥昔单抗联合 CHOP 与单用 CHOP 方案治疗初治弥漫大 B 细胞淋巴瘤疗效及安全性对比[J]. 临床血液学杂志, 2015, 28(9): 760-763.
- [12] 代湘云, 吴涛, 毛东锋, 等. 利妥昔单抗在血液系统疾病中的应用现状[J]. 中华全科医师杂志, 2018, 17(10): 840-842.

(收稿日期: 2019-07-25)