

阿法骨化醇联合小剂量利妥昔单抗治疗成人持续性原发性免疫性血小板减少症的疗效及对外周血 DC 亚群和血清 Th1/Th2 细胞相关因子的影响

李超¹, 王玉¹, 李爽¹, 汪钰², 任欣¹, 汪晓¹

1. 北京航天总医院 血液肿瘤科, 北京 100076

2. 唐山市中心血站 质控科, 河北 唐山 063000

摘要: 目的 探讨阿法骨化醇联合小剂量利妥昔单抗治疗成人持续性原发性免疫性血小板减少症 (ITP) 的临床疗效以及其对患者外周血树突状细胞 (DC) 亚群和血清辅助性 T 细胞 (Th) 1/Th2 相关细胞因子、白细胞介素 (IL) -17、1, 25-双羟维生素 D₃ [1, 25(OH)₂D₃] 水平的影响。方法 回顾性选择北京航天总医院 2019 年 1 月—2021 年 12 月收治的 92 例成人持续性 ITP 患者为研究对象, 根据治疗方法的不同分成试验组 46 例与对照组 46 例。对照组给予小剂量利妥昔单抗注射液静脉输注治疗, 每次 100 mg, 每次 30 min, 每周 1 次, 共 4 次。试验组在对照组基础上联合给予阿法骨化醇胶囊口服治疗, 每次 1 粒, 每天 1 次。两组均连续治疗 4 周。比较两组临床疗效。分别于治疗前后检测两组患者外周血 DC 亚群 [浆细胞样树突状细胞 (pDC)、髓样树突状细胞 (mDC)], 血清 Th1/Th2 相关细胞因子 [IL-2、 γ 干扰素 (IFN- γ)、IL-4、IL-10], 血清 IL-17、1, 25(OH)₂D₃ 水平。统计两组不良反应发生情况。结果 试验组总有效率为 82.61%, 与对照组的 63.04% 相比显著升高 ($P < 0.05$)。两组治疗后外周血 mDC 占比均较本组治疗前显著降低 ($P < 0.05$), 外周血 pDC 占比均较本组治疗前显著升高 ($P < 0.05$); 且均以试验组的改善更显著 ($P < 0.05$)。两组治疗后血清 IL-2、IFN- γ 水平均较本组治疗前显著降低 ($P < 0.05$), 血清 IL-4、IL-10 水平均较本组治疗前显著升高 ($P < 0.05$); 且治疗后, 试验组血清 IL-2、IFN- γ 水平均显著低于对照组 ($P < 0.05$), 血清 IL-4、IL-10 水平均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。两组治疗后血清 IL-17 水平均较本组治疗前显著降低 ($P < 0.05$), 血清 1, 25(OH)₂D₃ 水平均较本组治疗前显著升高 ($P < 0.05$); 且治疗后, 试验组血清 IL-17 水平显著低于对照组 ($P < 0.05$), 血清 1, 25(OH)₂D₃ 水平显著高于对照组 ($P < 0.05$)。试验组不良反应总发生率 (19.57%) 与对照组 (17.39%) 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 阿法骨化醇联合小剂量利妥昔单抗治疗成人持续性 ITP 能有效调节患者外周血 DC 亚群和血清 Th1/Th2 细胞因子、IL-17、1, 25(OH)₂D₃ 水平, 提高临床疗效, 且安全性较好。

关键词: 阿法骨化醇; 利妥昔单抗; 原发性免疫性血小板减少症; 成人; 树突状细胞亚群, Th1/Th2 细胞因子; 1, 25-双羟维生素 D₃

中图分类号: R973 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 11-2284-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.11.016

Efficacy of alfacalcitol combined with low-dose rituximab in treatment of persistent primary immune thrombocytopenia in adults and effects on peripheral blood DC subsets and serum Th1/Th2 cytokines

LI Chao¹, WANG Yu¹, LI Shuang¹, WANG Yu², REN Xin¹, WANG Xiao¹

1. Department of Hematology and Oncology, Beijing Aerospace General Hospital, Beijing 100076, China

2. Department of Quality Control, Tangshan Central Blood Station, Tangshan 063000, China

Abstract: Objective To investigate the clinical efficacy of alfacalcitol combined with low-dose rituximab in treatment of persistent primary immune thrombocytopenia (ITP) in adults and its effects on peripheral blood dendritic cell (DC) subsets and serum helper T cell (Th) 1/Th2 cytokines, interleukin (IL-17) and 1, 25-dihydroxyvitamin D₃[1, 25(OH)₂D₃] levels. **Methods** A total of 92 adult patients with persistent ITP admitted to Beijing Aerospace General Hospital from January 2019 to December 2021 were selected as the study subjects, and they were divided into experimental group ($n = 46$) and control group ($n = 46$) according to the different

收稿日期: 2022-04-12

基金项目: 航天医科医疗项目 (2020YK23)

第一作者: 李超 (1982—), 女, 汉族, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向为血液肿瘤。E-mail: ljm0100@163.com

treatment methods. Patients in the control group were treated with intravenous infusion of low dose of Rituximab Injection, 100 mg each time, and infusion for 30 min each time, once a week, four times in total. On the basis of the control group, patients in the experimental group were given Alfacalciferol Capsules orally, one capsule each time, once a day. Patients in both groups were treated continuously for four weeks. The clinical therapeutic efficacy of the two groups was compared after treatment. Peripheral blood DC subsets [plasmacytoid dendritic cells (pDC), myeloid dendritic cells (mDC)], serum Th1/Th2 cytokines [IL-2, γ -interferon (IFN- γ), IL-4, IL-10] and serum IL-17, 1, 25(OH) $_2$ D $_3$ were detected before and after treatment. The adverse reactions of the two groups were recorded. **Results** The total effective rate of experimental group was 82.61%, significantly higher than that of control group (63.04%, $P < 0.05$). After treatment, the percentage of mDC in peripheral blood of two groups were significantly decreased ($P < 0.05$), and the percentage of pDC in peripheral blood was significantly increased ($P < 0.05$). The improvement in experimental group was more significant ($P < 0.05$). After treatment, the levels of serum IL-2 and IFN- γ in two groups were significantly decreased compared with before treatment ($P < 0.05$), and the concentrations of serum IL-4 and IL-10 in two groups were significantly increased compared with before treatment ($P < 0.05$). After treatment, the levels of serum IL-2 and IFN- γ in experimental group were significantly lower than those in control group ($P < 0.05$), and the contents of serum IL-4 and IL-10 in experimental group were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). After treatment, the serum IL-17 level in two groups were significantly decreased ($P < 0.05$), and the serum 1, 25(OH) $_2$ D $_3$ content in two groups were significantly increased ($P < 0.05$). After treatment, serum IL-17 level in experimental group was significantly lower than that in control group ($P < 0.05$), and serum 1, 25(OH) $_2$ D $_3$ concentration in experimental group was significantly higher than that in control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the experimental group (19.57%) and the control group (17.39%, $P > 0.05$). **Conclusion** Alfacalcitol combined with low-dose rituximab can effectively regulate peripheral blood DC subsets and serum Th1/Th2 cytokines, IL-17, 1, 25(OH) $_2$ D $_3$ levels in treatment of adult persistent ITP, and improve clinical efficacy with good safety.

Key words: alfacalcitol; rituximab; primary immune thrombocytopenia; adult; dendritic cell subpopulation; Th1/Th2 cytokine; 1, 25-dihydroxyvitamin D $_3$

原发性免疫性血小板减少症(ITP)是一种自身免疫性疾病,也是临床最常见的出血性疾病,以不明原因外周血小板减少为主要特征^[1]。ITP大多无明显症状表现,但若血小板计数过低,则易引起外伤出血,甚至自发性出血,表现为皮肤瘀斑、鼻出血、口腔血泡、女性生理期月经量增多、乏力等,病情严重时可能引发内脏出血乃至颅内出血,危及患者生命。由于ITP易反复发作,病情迁延难治,死亡风险明显高于普通人群,加之患者对于出血的恐惧,可严重影响患者的生活质量^[2]。ITP的治疗目标是将血小板计数提高至安全水平,减少出血风险,改善患者的生活质量。利妥昔单抗是第一代人鼠嵌合抗CD20单克隆抗体,可通过清除循环中B淋巴细胞以减少体内血小板抗体生成,缓解血小板破坏^[3]。维生素D在人体内的活性形式为1,25-双羟维生素D $_3$ [1,25(OH) $_2$ D $_3$],近年来研究发现其可作为免疫应答的调节剂,参与多种免疫调节活动,与哮喘、系统性红斑狼疮、变应性鼻炎等免疫性疾病密切相关^[4]。而ITP作为一种自身免疫性疾病,其发生、发展可能与1,25(OH) $_2$ D $_3$ 缺乏有关^[5]。阿法骨化醇是骨化三醇类似物,经过肝25-羟化酶作用后可形成有活性的骨化三醇,即1,25(OH) $_2$ D $_3$ 。通过补充阿

法骨化醇对于与1,25(OH) $_2$ D $_3$ 缺乏有关的疾病可能具有积极意义。为进一步探讨成人持续性ITP更为安全有效的治疗方案,本研究对北京航天总医院近年来收治的成人持续性ITP患者在小剂量利妥昔单抗治疗基础上联合给予阿法骨化醇进行治疗,并与单用小剂量利妥昔单抗作对照,观察疗效,为临床成人持续性ITP的治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用回顾性病例对照研究方法,收集北京航天总医院2019年1月—2021年12月收治的92例成人持续性ITP患者的临床资料,其中男38例,女54例;年龄19~75岁,平均年龄(47.21 \pm 7.98)岁;病程3~12个月,平均病程(9.17 \pm 1.35)个月;体质指数(BMI)18.2~28.6 kg \cdot m $^{-2}$,平均BMI(21.59 \pm 2.41)kg \cdot m $^{-2}$;血小板计数(10~27) $\times 10^9\cdot$ L $^{-1}$,平均计数(14.97 \pm 3.32) $\times 10^9\cdot$ L $^{-1}$ 。本研究经北京航天总医院医学伦理委员会审批同意(编号HT2021076)。

1.2 诊断标准

符合《中国成人原发性免疫性血小板减少症治疗指南》^[6]中成人持续性ITP的诊断标准:(1)血常规检查连续2次及以上出现血小板计数减少($< 100 \times$

$10^9 \cdot L^{-1}$)而血细胞形态无异常;(2)脾脏不增大;(3)骨髓检查显示巨核细胞正常或增多,伴成熟障碍;(4)排除其他原因所致血小板减少症;(5)血小板持续减少3~12个月。

1.3 纳入标准与排除标准

1.3.1 纳入标准 (1)满足成人持续性ITP的诊断标准;(2)年龄 ≥ 18 岁,性别不限;(3)经标准糖皮质激素治疗无效或激素依赖,不愿或不直接接受脾切除;(4)自愿签署知情同意书;(5)无阿法骨化醇、利妥昔单抗使用禁忌证。

1.3.2 排除标准 (1)合并重要脏器功能障碍;(2)伴有恶性肿瘤、重度感染;(3)患有精神疾病,不能配合治疗;(4)伴有其他自身免疫性疾病、血液系统疾病;(5)由感染、骨髓增生异常、甲状腺疾病等引起的继发性血小板减少症;(6)妊娠期或哺乳期妇女;(7)合并活动性肝炎。

1.4 治疗方法

对照组给予小剂量利妥昔单抗注射液(Roche Diagnostics GmbH,上海罗氏制药有限公司分装,国药准字J20170034,规格100 mg:10 mL,批号20181005、20200107、20210209)静脉输注治疗,每次100 mg,每次30 min,每周1次,共4次。试验组在对照组基础上联合给予阿法骨化醇胶囊[康臣药业(内蒙古)有限责任公司,国药准字H20041837,规格:每粒0.5 μ g,批号1811093、2002084、21011101]口服治疗,每次1粒,每天1次。两组均连续治疗4周。

1.5 观察指标

(1)分别于治疗前后使用美国贝克曼库尔特公司产的CytoFLEX型流式细胞仪测定两组患者外周血浆细胞样树突状细胞(pDC)以及髓样树突状细胞(mDC)的百分比。(2)分别于治疗前后抽取患者外周静脉血5 mL,运用德国Eppendorf公司产的5810型离心机离心($3\ 000\ r \cdot min^{-1}$)10 min,分离血清,分装并于 $-70\ ^\circ C$ 下冻存待测;选用美国Awareness公司产的Stat Fax4300型酶标仪,以酶联免疫法(试剂盒均购自上海盈公实业有限公司)检测血清辅助性T细胞(Th)1/Th2细胞因子[白细胞介素(IL)-2、 γ 干扰素(IFN- γ)、IL-4、IL-10],IL-17和 $1,25(OH)_2D_3$ 水平,操作均按说明书进行。(3)治疗过程中记录两组不良反应情况,包括全身症状、皮肤症状以及呼吸系统、消化系统异常等,如发热、寒战、疲乏、皮肤瘙痒、呼吸困难、恶心、头痛等。

1.6 疗效判定标准^[6]

完全反应(CR):血小板计数 $\geq 100 \times 10^9 \cdot L^{-1}$,且无出血;有效(R):血小板计数 $\geq 30 \times 10^9 \cdot L^{-1}$,或与基线血小板计数相比增加 ≥ 2 倍,且无出血;无效(NR):血小板计数 $< 30 \times 10^9 \cdot L^{-1}$,或与基线血小板计数相比增加 < 2 倍,或有出血。在判断CR或R时,血小板计数检测 ≥ 2 次,间隔 ≥ 7 d。

总有效率=(CR+R)例数/总例数

1.7 统计学分析

使用统计软件SPSS 25.0处理数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内与组间比较分别行配对与独立样本 t 检验,计数资料行 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基线资料比较

根据治疗方法的不同将患者分成对照组和试验组,每组各46例。对照组男18例,女28例;年龄20~74岁,平均年龄(46.74 ± 7.63)岁;病程3~12个月,平均病程(9.06 ± 1.39)个月;BMI $18.2 \sim 28.1\ kg \cdot m^{-2}$,平均BMI(21.55 ± 2.34) $kg \cdot m^{-2}$;血小板计数($10 \sim 27$) $\times 10^9 \cdot L^{-1}$,平均计数(15.24 ± 3.46) $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ 。试验组男20例,女26例;年龄19~75岁,平均年龄(47.56 ± 8.20)岁;病程3~12个月,平均病程(9.25 ± 1.23)个月;BMI $18.7 \sim 28.6\ kg \cdot m^{-2}$,平均BMI(21.62 ± 2.45) $kg \cdot m^{-2}$;血小板计数($10 \sim 26$) $\times 10^9 \cdot L^{-1}$,平均计数(14.65 ± 3.14) $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ 。两组基线资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

2.2 两组临床疗效比较

试验组总有效率为82.61%,与对照组(63.04%)相比显著升高($P < 0.05$)。见表1。

表1 两组临床疗效比较

Table 1 Comparison of therapeutic efficacy between two groups

组别	n/例	CR/例	R/例	NR/例	总有效率/%
对照	46	12	17	17	63.04
试验	46	21	17	8	82.61*

与对照组比较:* $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

2.3 两组外周血DC亚群比较

治疗前,两组患者外周血DC亚群mDC和pDC占比比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后两组外周血mDC占比均较本组治疗前显著降低($P <$

0.05),外周血 pDC 占比均较本组治疗前显著升高($P < 0.05$);且均以试验组的改善效果更显著($P < 0.05$)。见表2。

2.4 两组血清 Th1/Th2 相关细胞因子水平比较

治疗前,两组患者血清 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-10 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);治疗后两组血清 IL-2、IFN- γ 水平均较本组治疗前显著降低($P < 0.05$),血清 IL-4、IL-10 水平均较本组治疗前显著升高($P < 0.05$);且治疗后,试验组血清 IL-2、IFN- γ 水平均显著低于对照组($P < 0.05$),血清 IL-4、IL-10 水平均显著高于对照组($P < 0.05$)。见表3。

表2 两组外周血 DC 亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of peripheral blood DC subsets between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	mDC/%		pDC/%	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照	46	0.30±0.05	0.26±0.04*	0.16±0.03	0.21±0.05*
试验	46	0.31±0.04	0.22±0.03**	0.15±0.02	0.25±0.04**

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表3 两组血清 Th1/Th2 相关细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum levels of Th1/Th2 related cytokines between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	IL-2/(pg·mL ⁻¹)		IFN- γ /(pg·mL ⁻¹)		IL-4/(pg·mL ⁻¹)		IL-10/(pg·mL ⁻¹)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照	46	382.79±22.44	340.32±20.23*	375.38±20.47	225.80±16.36*	40.32±5.26	55.51±6.84*	114.77±9.86	186.82±13.05*
试验	46	385.31±25.31	256.31±17.24**	376.94±22.34	184.24±14.35**	39.87±5.41	65.64±7.52**	115.56±10.23	198.34±12.23**

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表4 两组血清 IL-17 和 1,25(OH)₂D₃ 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of serum IL-17 and 1,25(OH)₂D₃ levels between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例	IL-17/(pg·mL ⁻¹)		1,25(OH) ₂ D ₃ /(μ g·L ⁻¹)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照	46	26.55±4.09	23.52±3.76*	57.24±5.18	68.75±6.75*
试验	46	26.83±4.27	20.45±3.45**	56.78±5.31	77.24±7.04**

与同组治疗前比较: * $P < 0.05$; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs same group before treatment; # $P < 0.05$ vs control group after treatment

表5 两组不良反应比较

Table 5 Comparison of adverse reactions between two groups

组别	n/例	发热寒战/例	疲乏/例	皮肤瘙痒/例	呼吸困难/例	呼吸道感染/例	恶心/例	腹泻/例	高血压/例	头痛/例	失眠/例	总发生率/%
对照	46	2	1	2	0	1	1	0	1	0	0	17.39
试验	46	1	1	1	1	0	2	1	0	1	1	19.57

2.5 两组血清 IL-17 和 1,25(OH)₂D₃ 水平比较

治疗前,两组患者血清 IL-17 和 1,25(OH)₂D₃ 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);治疗后两组血清 IL-17 水平均较本组治疗前显著降低($P < 0.05$),血清 1,25(OH)₂D₃ 水平均较本组治疗前显著升高($P < 0.05$);且治疗后,试验组血清 IL-17 水平显著低于对照组($P < 0.05$),血清 1,25(OH)₂D₃ 水平显著高于对照组($P < 0.05$)。见表4。

2.6 两组不良反应比较

试验组不良反应总发生率与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

3 讨论

ITP 主要是由免疫功能异常或紊乱所致的出血性自身免疫性疾病,以血小板减少为主要特征,约占出血性疾病的 1/3。根据病程长短,临床上将 ITP 分为 3 期,即新诊断的 ITP(病程 3 个月内)、持续性 ITP(病程 3~12 个月)以及慢性 ITP(病程 > 12 个月)。ITP 在成人中多呈慢性发作,成人 ITP 的发病率约为十万分之 6.1,女性多于男性^[7]。针对 ITP 临床上常用的治疗方法是药物治疗或脾切除,其中糖皮质激素是目前 ITP 的首选治疗手段,但部分患者

会出现治疗无效或激素依赖现象,导致病情迁延,且糖皮质激素的长期使用可引发肥胖、骨质疏松、股骨头坏死、糖尿病、高血压等一系列不良反应^[8]。对于糖皮质激素反应不佳或撤减困难的ITP患者,需积极启动二线治疗。

利妥昔单抗是一种人鼠嵌合型抗CD20单抗,对CD20阳性B细胞亲和力强,可与B细胞表面CD20受体结合,激活补体依赖性细胞毒性作用(CDC)以及抗体依赖性细胞介导的细胞毒性作用(ADCC),以造成B细胞溶解、死亡,从而清除血液、淋巴结和骨髓中活化的B细胞,减少由B细胞产生的自身抗体,最终缓解血小板破坏^[9]。利妥昔单抗已被广泛应用于非霍奇金淋巴瘤(NHL)、原发性皮肤B细胞淋巴瘤、类风湿关节炎、慢性淋巴细胞白血病、系统性红斑狼疮等疾病的治疗中。近年来其也被应用于ITP的治疗中,并被证实是安全有效的^[10]。利妥昔单抗的应用可以推迟脾切除时间,或避免进一步行脾切除术。美国血液学会(ASH)关于ITP的诊断和治疗指南中也推荐将利妥昔单抗作为成人慢性ITP的一线治疗药物^[11]。胡学琼等^[12]对收治的难治性ITP患者分别给予小剂量利妥昔单抗与环孢素治疗,结果发现小剂量利妥昔单抗相对于环孢素能更有效地提升患者血小板计数,治疗后2周及1、2、3个月反应率以及3个月CR率均显著高于环孢素。利妥昔单抗尽管疗效较好,但大剂量使用容易引起不良反应,且利妥昔单抗价格昂贵,大剂量使用也会给患者带来经济负担。张瑜兰等^[13]对收治的老年慢性ITP患者分别给予了小剂量与标准剂量的利妥昔单抗治疗后,总有效率分别为62%(31/50)、64%(32/50),两组比较差异无统计学意义。可见,小剂量利妥昔单抗能取得与标准剂量相当的治疗效果。

维生素D是一种类固醇衍生物,具有多种生物学效应,其不仅能调节钙磷代谢,维持骨骼健康与神经肌肉功能,还可调节机体免疫应答,抑制炎症反应,维生素D的缺乏与风湿性疾病、多发性硬化、系统性红斑狼疮等多种自身免疫性疾病存在密切的相关性^[14]。1,25(OH)₂D₃是维生素D在体内的主要活性代谢物,其异常表达可能与ITP的发生发展有关,而通过外源性补充1,25(OH)₂D₃对于ITP可能起到保护作用^[15]。阿法骨化醇是一种维生素D类似物,可经肝脏代谢成1,25(OH)₂D₃,进而发挥治疗效用。本研究显示,治疗后试验组总有效率为80.43%,显著高于对照组,且血清1,25(OH)₂D₃水

平较对照组升高更显著。提示,在小剂量利妥昔单抗治疗基础上联合阿法骨化醇治疗成人持续性ITP能进一步提高临床疗效。

ITP的发病机制十分复杂,一般认为该病是由体液免疫紊乱所引发,但随着研究的深入,发现ITP患者存在细胞免疫功能紊乱,涉及到DC亚群、T细胞亚群(如Th1/Th2细胞失衡、Th17细胞等)及其相关细胞因子,细胞免疫紊乱在ITP的发病过程中起着至关重要的作用^[16]。DC是体内功能最强的专职抗原呈递细胞(APC),根据其来源与功能的不同可将其分成mDC与pDC两个亚群。DC可活化T细胞与B细胞,参与包括ITP在内的多种自身免疫性疾病的发病过程。其中mDC可诱导Th0细胞分化为Th1细胞,pDC可促进Th0细胞分化为Th2细胞。Th1细胞主要通过分泌IL-2、IFN- γ 等细胞因子介导细胞免疫应答,Th2细胞则主要通过分泌IL-4、IL-10等细胞因子介导体液免疫反应。正常生理状态下,Th1细胞与Th2细胞处于动态平衡中,二者交叉调节、相互抑制,共同维护免疫内环境的稳定,而这种动态平衡一旦被打破即会诱发自身免疫性疾病。研究发现^[17],ITP患者机体内Th1/Th2细胞存在平衡偏移现象,并以Th1细胞占优势,通过检测血清Th1/Th2细胞因子水平可以发现,Th1细胞分泌的IL-2、IFN- γ 水平异常升高,Th2细胞分泌的IL-4、IL-10水平明显降低。本研究通过检测两组治疗前后的外周血DC亚群以及血清Th1/Th2细胞因子水平得出,两组治疗后外周血mDC百分比及血清IL-2、IFN- γ 水平均较治疗前显著降低,外周血pDC百分比及血清IL-4、IL-10水平均较治疗前显著升高;且均以试验组的改善更显著。该结果提示,阿法骨化醇联合小剂量利妥昔单抗能有效调节成人持续性ITP患者外周血DC亚群失调,下调血清IL-2、IFN- γ 表达水平,上调血清IL-4、IL-10表达水平,进而调节Th1/Th2免疫失衡,改善成人持续性ITP患者的细胞免疫功能。

Th17细胞是近年来发现的一种新型CD4⁺T细胞亚型,可通过分泌IL-17等细胞因子发挥作用。IL-17是Th17细胞分泌的特征性细胞因子,可促进自身免疫性疾病病情进展。刘豹等^[18]研究显示,ITP患儿血清IL-17水平较健康儿童显著升高,而经过一线治疗后血清IL-17水平显著降低,并降至健康儿童水平,推测IL-17的异常升高可使B细胞增殖分化能力增强,进而造成更多的血小板抗体生成,促进ITP病情进展。胡江等^[19]研究指出,外周血

Th17细胞及其细胞因子IL-17可能参与了ITP发病过程,通过检测其水平对于ITP的诊断与治疗能起到一定的指导作用。本研究结果显示,两组治疗后血清IL-17水平均较治疗前显著降低,且以试验组的降低更显著。表明阿法骨化醇联合小剂量利妥昔单抗能有效调节成人持续性ITP患者血清IL-17的表达,从而有利于减少血小板抗体生成,抑制ITP病情进展。付强等^[20]研究也证实,阿法骨化醇能有效降低血清IL-17水平,改善细胞免疫功能。

综上所述,在小剂量利妥昔单抗基础上联合阿法骨化醇治疗成人持续性ITP能更有效地调节患者外周血DC亚群和血清Th1/Th2细胞因子、IL-17、1,25(OH)₂D₃水平,改善细胞免疫功能,提高临床疗效,且安全性较好,值得临床应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Mishra K, Kumar S, Sandal R, et al. Safety and efficacy of splenectomy in immune thrombocytopenia [J]. *Am J Blood Res*, 2021, 11(4): 361-372.
- [2] Cooper N, Hill Q A, Grainger J, et al. Tapering and discontinuation of thrombopoietin receptor agonist therapy in patients with immune thrombocytopenia: Results from a modified Delphi panel [J]. *Acta Haematol*, 2021, 144(4): 418-426.
- [3] Harris E M, Hillier K, Al-Samkari H, et al. Response to rituximab in children and adults with immune thrombocytopenia (ITP) [J]. *Res Pract Thromb Haemost*, 2021, 5(6): e12587.
- [4] Çoban K, Öz I, Topçu D İ, et al. The impact of serum 25-hydroxyvitamin D₃ levels on allergic rhinitis [J]. *Ear Nose Throat J*, 2021, 100(5): NP236-NP241.
- [5] Petrovic D, Benzon B, Batinic M, et al. Hypovitaminosis D influences the clinical presentation of immune thrombocytopenia in children with newly diagnosed disease [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(11): 1861.
- [6] Liu X G, Bai X C, Chen F P, et al. Chinese guidelines for treatment of adult primary immune thrombocytopenia [J]. *Int J Hematol*, 2018, 107(6): 615-623.
- [7] Weycker D, Hanau A, Hatfield M, et al. Primary immune thrombocytopenia in US clinical practice: Incidence and healthcare burden in first 12 months following diagnosis [J]. *J Med Econ*, 2020, 23(2): 184-192.
- [8] 黄琳琳, 梅恒. 新药时代原发免疫性血小板减少症个体化治疗展望 [J]. *中华血液学杂志*, 2021(11): 965-968.
- [9] Huang L L, Mei H. Prospects of individualized diagnosis and treatment of primary immune thrombocytopenia in the era of new drugs [J]. *Chin J Hematol*, 2021(11): 965-968.
- [9] 张相林. 利妥昔单抗药物个体化治疗的药学进展 [J]. *药物不良反应杂志*, 2021, 23(10): 535-541.
- Zhang X L. Pharmaceutical progress in individualized rituximab treatment [J]. *Adverse Drug React J*, 2021, 23(10): 535-541.
- [10] Beyler O, Gunes A, Akat G K, et al. The factors that affect the results of the response to rituximab treatment in ITP patients [J]. *Hematol Transfus Cell Ther*, 2020, 42: 25.
- [11] Neunert C E, Cooper N. Evidence-based management of immune thrombocytopenia: ASH guideline update [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2018, 2018(1): 568-575.
- [12] 胡学琼, 宝国秀, 王红霞, 等. 小剂量利妥昔单抗与环孢素治疗难治性原发性免疫性血小板减少症的疗效及安全性分析 [J]. *中国药物与临床*, 2020, 20(20): 3476-3478.
- Hu X Q, Bao G X, Wang H X, et al. Efficacy and safety of low-dose rituximab and cyclosporine in the treatment of refractory primary immune thrombocytopenia [J]. *Chin Remedies Clin*, 2020, 20(20): 3476-3478.
- [13] 张瑜兰, 杜娟英. 小剂量与标准剂量利妥昔单抗对老年慢性难治性原发性免疫性血小板减少症患者的临床疗效分析 [J]. *山西医药杂志*, 2021, 50(1): 56-58.
- Zhang Y L, Du J Y. Clinical efficacy of low-dose versus standard-dose rituximab in elderly patients with chronic refractory primary immune thrombocytopenia [J]. *Shanxi Med J*, 2021, 50(1): 56-58.
- [14] 张楠, 时鹏, 年娣. 维生素D在自身免疫性疾病中的研究进展 [J]. *检验医学与临床*, 2021, 18(21): 3197-3200.
- Zhang N, Shi P, Nian D. Research progress of vitamin D in autoimmune diseases [J]. *Lab Med Clin*, 2021, 18(21): 3197-3200.
- [15] 顾悦, 刘莉侠, 杨明珍, 等. 1,25-二羟维生素D₃对免疫性血小板减少症模型小鼠的治疗作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2015, 50(11): 1574-1578.
- Gu Y, Liu L X, Yang M Z, et al. The therapeutic effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on ITP mice model [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2015, 50(11): 1574-1578.
- [16] 崔清彦, 颀迎新, 王文欣, 等. 免疫性血小板减少症发病机制的研究进展 [J]. *山东医药*, 2020, 60(4): 102-105.
- Cui Q Y, Xie Y X, Wang W X, et al. Research progress of pathogenesis of immune thrombocytopenia [J]. *Shandong Med*, 2020, 60(4): 102-105.

- [17] 周颖,周莉,袁韵. 抗幽门螺旋杆菌联合重组人血小板生成素对难治性特发性血小板减少性紫癜Th1/Th2细胞因子的影响[J]. 中国临床研究, 2020, 33(12): 1624-1627.
Zhou Y, Zhou L, Yuan Y. Impacts of anti-Hp therapy combined with recombinant human thrombopoietin on Th1/Th2 cytokines in patients with refractory ITP [J]. Chin J Clin Res, 2020, 33(12): 1624-1627.
- [18] 刘豹,石太新,赵东菊,等. 免疫性血小板减少症患者外周血T淋巴细胞相关细胞因子水平变化[J]. 新乡医学院学报, 2018, 35(12): 1089-1093.
Liu B, Shi T X, Zhao D J, et al. Levels and clinical significance of T lymphocyte related cytokines in peripheral blood in children with immune thrombocytopenia [J]. J Xinxiang Med Univ, 2018, 35(12): 1089-1093.
- [19] 胡江,方乐. 特发性血小板减少性紫癜患者外周血Th1、Th17细胞及其血清白细胞介素-17、 γ -干扰素水平的表达及临床意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(13): 1618-1620, 1624.
Hu J, Fang L. Expression and clinical significance of serum Th1, Th17 cells and IL-17, IFN- γ levels in peripheral blood of ITP patients [J]. Chin J Heal Lab Technol, 2021, 31(13): 1618-1620, 1624.
- [20] 付强,石明芳,陈颖. 阿法骨化醇治疗儿童过敏性紫癜的前瞻性随机对照研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2021, 23(8): 797-801.
Fu Q, Shi M F, Chen Y. Clinical effect of alfacalcidol in children with Henoch-Sch? nlein *Purpura*: A prospective randomized controlled trial [J]. Chin J Contemp Pediatr, 2021, 23(8): 797-801.

[责任编辑 刘东博]