

- [3] 李小盼,李世清,胡瑜. 护理干预联合氧驱动雾化对小儿重症肺炎咳嗽的临床观察研究[J]. 安徽医药, 2014, 18(6): 1179-1181.
- [4] 江玉凤,陈敏利,符慧玉,等. 新生儿感染性肺炎危险因素分析与预防措施[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(6): 1387-1389.
- [5] 顾雯雯. 新生儿感染性疾病危险因素分析与对策[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2016, 10(1): 93-95.
- [6] 操晓莉,陈梅俐. 新生儿败血症的病原菌及耐药分析[J]. 安徽医药, 2013, 17(6): 1015-1016.
- [7] 毛立英. 新生儿感染的病原菌分布特点与耐药性及危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(2): 382-384.
- [8] SAVARD N, LEVALLOIS P, RIVEST LP, et al. Impact of individual and ecological characteristics on small for gestational age births: an observational study in Quebec[J]. Chronic Dis Inj Can, 2014, 34(1): 46-45.
- [9] 谢朝云,熊芸,孙静,等. 新生儿重症监护病房多重耐药菌感染危险因素 logistic 回归分析[J]. 临床儿科杂志, 2016, 34(9): 641-644.
- [10] 邹晓萍,窦贺荣,史海霞,等. 胎膜早破后残余羊水指数与母儿预后的关系探讨[J]. 安徽医药, 2013, 17(4): 584-585.
- [11] 龙彪. 早产儿并胎膜早破的新生儿预后临床分析[J]. 内蒙古中医药, 2012, 31(13): 41.
- [12] 宋晓英,赵力力,李永强,等. 胎膜早破病例发生的同时与新生儿感染症状合并的风险探讨[J]. 中国农村卫生, 2013(21): 75.
- [13] 蔡晓沂,钟镐镐,王秀艳,等. 快速、准确的 B 族链球菌检测-即时荧光探针核酸扩增技术的应用[J]. 现代预防医学, 2013, 40(13): 2533-2535.

(收稿日期:2017-08-11, 修回日期:2017-10-10)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.03.025

◇临床医学◇

外周血 Th17 细胞对大剂量地塞米松治疗免疫性血小板减少症长期疗效的预测价值

李颢^a, 姜海华^a, 王新伟^b作者单位:汝南县人民医院,^a 检验科,^b 血液科,河南 汝南 463300

摘要:目的 评价免疫性血小板减少症(ITP)病人外周血 Th17 细胞比例对大剂量地塞米松(DXM)长期疗效的预测价值。方法 采用流式细胞术检测 42 例初诊 ITP 病人外周血 Th17 细胞比例,分析 Th17 细胞比例在持续反应组病人(15 例)及复发组(18 例)病人之间的差异,应用受试者工作曲线法(ROC)分析 Th17 细胞比例对大剂量 DXM 长期疗效的预测价值。结果 复发组病人治疗前外周血 Th17 细胞比例显著高于持续反应组病人($P < 0.01$)。应用治疗前外周血 Th17 细胞比例预测大剂量 DXM 的长期疗效,其曲线下面积为 0.857(95% CI:0.717~0.998, $P < 0.01$), cut-off 值为 1.235%。结论 初诊外周血 Th17 细胞比例有助于预测大剂量 DXM 在 ITP 的长期疗效。

关键词:免疫性血小板减少症; Th17 细胞; 地塞米松; 疗效

Predictive value of Th17 cells on the long-term efficacy of high-dose dexamethasone in the treatment of patients with immune thrombocytopenia

LI Hao^a, JIANG Haihua^a, WANG Xinwei^b

Author Affiliation: ^aDepartment of Laboratory Medicine, ^bDepartment of Hematology, Runan People's Hospital, Runan, Henan 463300, China

Abstract: Objective To assess the value of Th17 cells on predicting long-term efficacy of high-dose dexamethasone (DXM) in the treatment of patients with immune thrombocytopenia (ITP). **Methods** Flow cytometry was used to detect Th17 cells in 42 newly-diagnosed ITP patients, and the difference of Th17 ratios was compared between sustained responders and relapsed patients. The predictive efficiency of Th17 cells on long-term efficacy of high-dose DXM was evaluated by receiver operating characteristics (ROC) curve analysis. **Results** The ratio of Th17 cells at diagnosis in relapsed ITP patients was significantly higher than that in sustained responders ($P < 0.01$). When long-term efficacy of high-dose DXM was evaluated by ROC curve analysis, the area under curve was 0.857(95% CI: 0.717-0.998, $P < 0.01$), cut-off value of Th17 cells ratio was 1.235%. **Conclusion** Ratios of Th17 cells in peripheral blood at diagnosis were useful for predicting the long-term efficacy of high-dose DXM in ITP patients.

Key words: Immune thrombocytopenia; Th17 cells; Dexamethasone; Efficacy

免疫性血小板减少症(immune thrombocytopenia, ITP)是临床最为常见的出血性疾病,其主要发病机制是由于病人对自身抗原的免疫耐受,导致

免疫介导的血小板破坏增多和巨核细胞产血小板障碍^[1]。阻止血小板过度破坏和促进血小板生成是治疗 ITP 的两个重要方面。糖皮质激素是治疗

ITP 的主要药物,由于长期服用泼尼松的不良反应发生率高,目前关于 ITP 的专家共识把短疗程、大剂量地塞米松(dexamethasone, DXM)放在常规剂量泼尼松之前进行推荐^[2]。尽管短疗程、大剂量的 DXM 方案能取得更高的治疗反应率及更短的达反应时间,但停止治疗 6 个月后仍有约 50% 的治疗反应者再次复发^[3-4]。因此,筛选大剂量 DXM 远期疗效的预测指标有助于对潜在的复发病人进行早期干预。Th17 细胞是分泌 IL-17 等细胞因子的 CD4⁺ T 细胞亚群,多项研究表明 ITP 病人外周血 Th17 细胞比例增高,并与 ITP 的发病密切相关^[5-7]。本研究通过检测大剂量 DXM 治疗前 ITP 病人外周血 Th17 细胞比例,探讨 Th17 细胞在预测短疗程、大剂量 DXM 长期疗效中的价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料 2015 年 2 月至 2016 年 8 月汝南县人民医院收治的原发初诊 ITP 病人 42 例,诊断依据文献^[1],并排除其他继发性疾病。男 20 例,女 22 例;中位年龄 36 岁(18~58)岁;中位血小板计数(PLT) $12 \times 10^9/L$ [(1~35) $\times 10^9/L$]。本研究得到汝南县人民医院医学伦理委员会批准,病人或其近亲属对研究方案签署知情同意书。

1.2 治疗方案 连续口服 DXM 4 d,每天 40 mg,不进行维持治疗;如停止治疗 1 周后 PLT 仍低于 $30 \times 10^9/L$,或仍有出血症状,再予 DXM (40 mg/d),口服 4 d。

1.3 疗效判断标准 完全反应(Complete response, CR)定义为治疗后 $PLT \geq 100 \times 10^9/L$ 且无出血症状;有效(Response, R)定义为治疗后 $PLT \geq 30 \times 10^9/L$ 且至少为基础 PLT 的 2 倍,同时无出血症状;无效(No response, NR)定义为治疗后 $PLT < 30 \times 10^9/L$ 或 PLT 不到基础值的 2 倍或仍有出血症状;持续反应(Sustained response, SR)定义为取得治疗反应后 6 个月内 $PLT \geq 30 \times 10^9/L$ 且无出血症状。

1.4 试剂与仪器 胎牛血清、RPMI-1640 培养基购自美国 Hyclone 公司;佛波酯、离子霉素购自美国 Sigma 公司,布雷菲德菌素 A 购自美国 Alexis 公司;PE-Cy7 标记的抗人 CD3 抗体、FITC 标记的抗人 CD8 抗体、PE 标记的抗人 IL-17A 抗体、Cytofix/Cytoperm 试剂盒均购自美国 BD 公司;FACSCanto II 型流式细胞仪为美国 BD 公司产品。

1.5 Th17 细胞比例测定 采集治疗前的 ITP 病人空腹静脉血 5 mL,肝素抗凝,于无菌条件下采用密度梯度离心法提取单个核细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基调整单个核细胞密度为 $4 \times$

$10^6/mL$ 。取单个核细胞悬液 1 mL 加入 24 孔培养板,再依次加入佛波酯、离子霉素和布雷菲德菌素 A,使其终浓度分别为 50 ng/mL、1 $\mu g/mL$ 、3 $\mu g/mL$,将培养板置于 37 $^{\circ}C$ 、5% 二氧化碳培养箱中孵育 4 h。收集细胞,加入 PE-Cy7 标记的 CD3 抗体和 FITC 标记的 CD8 抗体各 10 μL ,避光孵育 15 min;然后按照 Cytofix/Cytoperm 试剂盒说明书固定、破膜,加入 PE 标记的 IL-17A 抗体孵育 30 min,最后用 PBS 洗涤细胞 2 遍后上机检测,计算 $CD3^{+}CD8^{-}IL-17A^{+}$ 细胞(Th17 细胞)占 $CD3^{+}CD8^{-}$ T 细胞的比例。

1.6 统计学方法 应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,剂量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据比较采用独立样本 *t* 检验,采用受试者工作曲线法(ROC)分析病人初诊时外周血 Th17 细胞比例对长期疗效的预测价值。检验水准取 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 ITP 病人的临床疗效 42 例初诊 ITP 病人接受大剂量 DXM 治疗后,CR 20 例(47.6%),R 13 例(31%),NR 9 例(22.4%)。33 例取得治疗反应的病人(CR + R)中,SR 15 例(45.45%),6 个月内复发 18 例(54.55%)。

2.2 ITP 病人外周血 Th17 细胞比例与大剂量 DXM 长期疗效的关系 比较治疗前外周血 Th17 细胞比例在 SR 组病人与复发组病人之间的差异,如图 1、图 2 所示,复发组(Relapse) Th17 细胞比例显著高于 SR 组 [(1.50 $\pm$ 0.46)% 比 (0.93 $\pm$ 0.24)% , $P < 0.01$]。

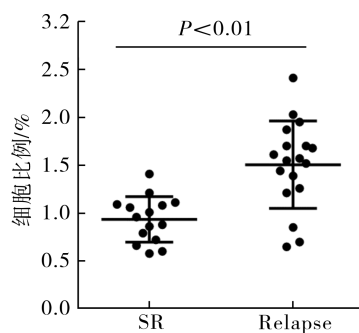
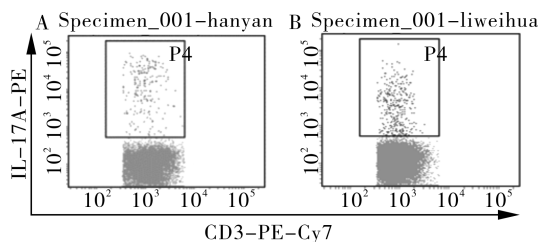


图1 ITP 病人外周血 Th17 细胞比例与大剂量 DXM 长期疗效的关系



注:Th17 细胞群(灰色)为 $CD3^{+}CD8^{-}IL-17A^{+}$,A 为 1 例 SR 病人流式图,B 为另外 1 例 SR 病人流式图

图2 代表性 Th17 细胞流式分析图

2.3 ITP 病人外周血 Th17 细胞比例对大剂量 DXM 长期疗效的预测价值 由于 ITP 病人初诊时外周血 Th17 细胞比例与大剂量 DXM 的长期疗效有关,进一步采用 ROC 评价 Th17 细胞比例是否有助于判断大剂量 DXM 的长期疗效。如图 3 所示,初诊时 Th17 细胞比例预测大剂量 DXM 长期疗效的曲线下面积 (AUC) 为 0.857 (95% CI 0.717 ~ 0.998, $P < 0.01$), cut-off 值为 1.235%, 此时敏感性为 77.8%, 特异性为 93.3%。

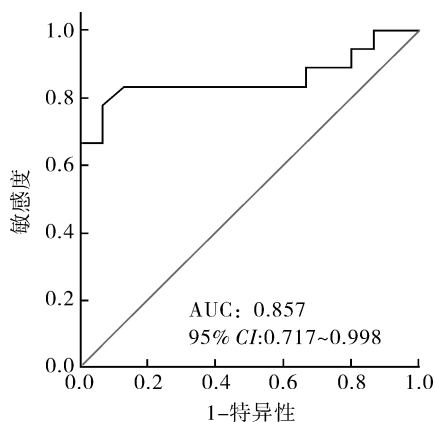


图3 外周血 Th17 细胞比例对大剂量 DXM 长期疗效的预测价值

3 讨论

传统观点认为,自身抗体介导的血小板破坏增多是 ITP 的主要致病机制。近年来,越来越多的研究表明失调的细胞免疫也参与 ITP 的发生发展,如 ITP 病人外周血存在 Th1/Th2 及 Th17/Treg 细胞比例失衡^[8]。Th17 细胞分泌特征性的促炎细胞因子 IL-17,而在包括 ITP 在内的多种自身免疫性疾病病人外周血中 Th17 细胞及 IL-17 水平升高^[7,9-10]。Yoh 等^[11]通过转基因技术成功构建 Th17 细胞上调的小鼠模型,观察到 Th17 细胞比例上调可促进抗血小板自身抗体产生。

糖皮质激素是初治 ITP 病人的一线治疗方案,研究表明短疗程、大剂量的 DXM 方案较长疗程、常规剂量的泼尼松方案有更高的治疗反应率,且感染、高血糖、高血压等不良反应发生率低于强的松方案^[4]。在本研究中,初治 ITP 病人对大剂量 DXM 的总体反应率 (CR + R) 为 78.6% (33/42),6 个月后仍有 45.5% (15/33) 的病人维持治疗反应,与既往研究结果基本一致^[3,4]。大剂量 DXM 可校正 ITP 病人外周血中失调的 Th17/Treg 细胞比例^[12],提示下调 Th17 细胞是 DXM 治疗 ITP 的途径之一。笔者观察到,对大剂量 DXM 持续反应的 ITP 病人初诊时外周血 Th17 细胞比例低于取得治疗反应但 6 个月

内复发的 ITP 病人,表明治疗前外周血 Th17 细胞比例与 DXM 的长期疗效有关。采用 ROC 进一步评价 Th17 细胞比例对大剂量 DXM 长期疗效的预测价值,结果显示曲线下面积为 0.87 ($P < 0.01$),表明初诊时外周血 Th17 细胞比例有助于预测大剂量 DXM 的长期疗效。

当然,本研究也存在一些局限性,一是纳入的样本量偏少,统计效率相对较低;二是多数 ITP 病人的随访时间截止到取得治疗反应后的 6 个月,无法评价 Th17 细胞比例对大剂量 DXM 方案更长疗效的预测价值。因此,尚需大样本的病例研究和更长的随访时间予以证实。

参考文献

- [1] 中华医学会血液学分会止血与血栓学组. 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识 (2016 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(2): 89-93.
- [2] 侯明, 秦平. 成人原发免疫性血小板减少症诊治的中国专家共识 (2016 版) 解 [J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(7): 523-527.
- [3] CHENG Y, WONG RS, SOO YO, et al. Initial treatment of immune thrombocytopenic purpura with high-dose dexamethasone [J]. N Engl J Med, 2013, 349(9): 831-836.
- [4] WEI Y, JI XB, WANG YW, et al. High-dose dexamethasone vs prednisone for treatment of adult immune thrombocytopenia: a prospective multicenter randomized trial [J]. Blood, 2016, 127(3): 296-302.
- [5] ZHOU L, XU F, CHANG C, TAO Y, et al. Interleukin-17-producing CD4+ T lymphocytes are increased in patients with primary immune thrombocytopenia [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2016, 27(3): 301-307.
- [6] JI L, ZHAN Y, HUA F, et al. The ratio of Treg/Th17 cells correlates with the disease activity of primary immune thrombocytopenia [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e50909. DOI: 10.1371/journal.pone.0050909.
- [7] 王潇, 周郁鸿, 陈小红, 等. Th17 细胞在特发性血小板减少性紫癜发病中的作用和意义 [J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(6): 1833-1836.
- [8] MCKENZIE CG, GUO L, FREEDMAN J, et al. Cellular immune dysfunction in immune thrombocytopenia (ITP) [J]. Br J Haematol, 2013, 163(1): 10-23.
- [9] KUWABARA T, ISHIKAWA F, KONDO M, et al. The role of IL-17 and related cytokines in inflammatory autoimmune diseases [J]. Mediators Inflamm, 2017, 3908061. DOI: 10.1155/2017/3908061.
- [10] 张玉萍, 姚茹冰, 赵智明, 等. IL-17 在类风湿关节炎中的研究进展 [J]. 安徽医药, 2016, 20(3): 580-582.
- [11] YOH K, MORITO N, OJIMA M, et al. Overexpression of ROR γ t under control of the CD2 promoter induces polyclonal plasmacytosis and autoantibody production in transgenic mice [J]. Eur J Immunol, 2012, 42(8): 1999-2009.
- [12] LI J, WANG Z, HU S, et al. Correction of abnormal T cell subsets by high-dose dexamethasone in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura [J]. Immunol Lett, 2013, 154(1-2): 42-48.

(收稿日期: 2017-04-26, 修回日期: 2017-06-18)