

· 临床 ·

## 补肾生血方治疗慢性再生障碍性贫血的临床疗效及对 T细胞亚群、T-bet与GATA3表达的影响

李芮<sup>1</sup>, 丁宇斌<sup>2</sup>, 王文儒<sup>1</sup>, 蒋佩珍<sup>1</sup>, 王金环<sup>3</sup>, 徐瑞荣<sup>4</sup>, 杨淑莲<sup>5</sup>, 王涛<sup>6</sup>, 刘奇峰<sup>7</sup>,  
王海霞<sup>8</sup>, 孙岸骏<sup>9</sup>, 沈建平<sup>10</sup>, 许亚梅<sup>11</sup>, 李建英<sup>12</sup>, 姚宇红<sup>13</sup>, 丁晓庆<sup>14</sup>, 史哲新<sup>15</sup>,  
周永明<sup>16</sup>, 胡琦<sup>17</sup>, 申小惠<sup>18</sup>, 许勇钢<sup>1</sup>, 刘凤<sup>1</sup>, 麻柔<sup>1</sup>, 唐旭东<sup>1\*</sup>

- (1. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091; 2. 深圳市中医院, 广东深圳 518005;  
3. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 哈尔滨 150040; 4. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011;  
5. 廊坊市中医医院, 河北廊坊 065099; 6. 河南中医药大学第一附属医院, 郑州 450099;  
7. 吉林省人民医院, 长春 130021; 8. 潍坊医学院附属医院, 山东潍坊 261035;  
9. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 10. 浙江省中医院, 杭州 310003;  
11. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100007; 12. 石家庄平安医院, 石家庄 050025;  
13. 贵州中医药大学第二附属医院, 贵阳 550003; 14. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078;  
15. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300073;  
16. 上海中医药大学附属岳阳医院, 上海 200083;  
17. 上海市中医医院, 上海 200071; 18. 甘肃省中医院, 兰州 730050)

**【摘要】** 目的:探讨补肾生血方与益气养血方治疗慢性再生障碍性贫血疗效及T细胞亚群与T-box家族的新型转录因子(T-bet)、Gata转录因子家族的转录因子3(GATA3)表达的影响。方法:收集2018年5月至2021年6月,在全国19家医院就诊的慢性再生障碍性贫血患者共585例,利用前瞻性、双盲、随机对照方法,采用分层区组随机法将患者分为3组,肾虚组、气血两虚组、对照组,中药治疗分别予补肾生血方颗粒、益气养血方颗粒、安慰剂(半量补肾生血方颗粒),均联合口服西药环孢素及雄激素。每组治疗以3个月为一疗程,连续观察2个疗程,分析治疗前后检测患者血常规,T细胞亚群及融合基因T-bet、GATA3,并监测安全性指标。结果:观察期间共脱落75例,剔除18例,最终肾虚组161例,气血两虚组164例,对照组167例,共492例完成治疗。治疗6个月后,肾虚组的总有效率98.8%(159/161)高于气血两虚组的79.9%(131/164)( $\chi^2=30.135, P<0.01$ );肾虚组明显高于对照组的总有效率61.7%(103/167)( $\chi^2=70.126, P<0.01$ );气血两虚组总有效率高于对照组( $\chi^2=13.232, P<0.01$ )。与本组治疗前比较,治疗后3组患者的血红蛋白(HGB)明显提升( $P<0.05, P<0.01$ ),且肾虚组HGB含量提高更为显著( $P<0.01$ );治疗后与气血两虚组比较,肾虚组与对照组的白细胞(WBC)及血小板(PLT)均显著升高( $P<0.01$ );3组患者治疗后的中性粒细胞(ANC)差异无统计学意义。3组患者在相同时间点进行比较,肾虚组T辅助细胞1(Th1)、Th1/Th2水平均明显降低( $P<0.05$ ),且肾虚组CD4<sup>+</sup>水平明显下降,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>明显降低( $P<0.05$ )。肾虚组与其余两组CD19<sup>-</sup>、HLA/DR<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>比较差异无统计学意义,肾虚组与对照组T-bet均低于气血两虚组( $P<0.05$ )。结论:补肾生血方治疗再生障碍性贫血可能通过改善免疫调节机制,抑制免疫系统活性,调节T细胞亚群,抑制Th1及CD4<sup>+</sup>水平,促进骨髓造血,且安全、不良反应小,方案值得进一步推广。

**【关键词】** 补肾生血方; 慢性再生障碍性贫血; 免疫调节; T辅助细胞1; T辅助细胞2; T-box家族的新型转录因子(T-bet); gata转录因子家族的转录因子3(GATA3)

**【中图分类号】** R22;R242;R2-031;R287 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2022)15-0094-08

**【doi】** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220924

**【网络出版地址】** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220311.1004.003.html>

**【网络出版日期】** 2022-03-11 17:21

**【收稿日期】** 2021-12-12

**【基金项目】** 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201507001-13);国家自然科学基金面上项目(81673819,82074258)

**【第一作者】** 李芮,博士,从事血液及肿瘤方向的临床及基础研究,E-mail:lirui961128@163.com

**【通信作者】** \*唐旭东,博士,主任医师,从事血液及血液恶性肿瘤的临床及基础研究,E-mail:tangxudong001@163.com

## Clinical Effect of Bushen Shengxue Prescription on Chronic Aplastic Anemia and Its Effect on T Cell Subsets and Expression of T-bet and GATA3

LI Rui<sup>1</sup>, DING Yubin<sup>2</sup>, WANG Wenru<sup>1</sup>, JIANG Peizhen<sup>1</sup>, WANG Jinhuan<sup>3</sup>, XU Ruirong<sup>4</sup>,  
YANG Shulian<sup>5</sup>, WANG Tao<sup>6</sup>, LIU Qifeng<sup>7</sup>, WANG Haixia<sup>8</sup>, SUN Antao<sup>9</sup>, SHEN Jianping<sup>10</sup>,  
XU Yamei<sup>11</sup>, LI Jianying<sup>12</sup>, YAO Yuhong<sup>13</sup>, DING Xiaoqing<sup>14</sup>, SHI Zhexin<sup>15</sup>, ZHOU Yongming<sup>16</sup>,  
HU Qi<sup>17</sup>, SHEN Xiaohui<sup>18</sup>, XU Yonggang<sup>1</sup>, LIU Feng<sup>1</sup>, MA Rou<sup>1</sup>, TANG Xudong<sup>1\*</sup>

- (1. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;  
2. Shenzhen Traditional Chinese Medicine (TCM) Hospital, Shenzhen 518005, China;  
3. First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Haerbin 150040, China;  
4. Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250011, China; 5. LangFang TCM  
Hospital, Langfang 065099, China; 6. The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese  
Medicine, Zhengzhou 450099, China; 7. Jilin Province People's Hospital, Changchun 130021, China;  
8. Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261035, China; 9. Guang'anmen Hospital,  
China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; 10. Zhejiang Provincial Hospital of  
Chinese Medicine, Hangzhou 310003, China; 11. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese  
Medicine, Beijing 100007, China; 12. Shijiazhuang Pingan Hospital Co. Ltd., Shijiazhuang 050025,  
China; 13. Second Affiliated Hospital of Guizhou University of TCM, Guiyang 550003, China;  
14. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China;  
15. First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300073, China; 16. Yueyang Hospital of  
Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of TCM, Shanghai 200083, China;  
17. Shanghai Municipal Hospital of TCM, Shanghai 200071, China;  
18. Gansu Provincial Hospital of TCM, Lanzhou 730050, China)

**[Abstract] Objective:** To investigate the efficacy of Bushen Shengxue prescription and Yiqi Yangxue prescription in the treatment of chronic aplastic anemia and the effect on T cell subsets and the expression of T-box expressed in T cells (T-bet) and GATA binding protein 3 (GATA3). **Method:** A total of 585 patients with chronic aplastic anemia who were treated in 19 hospitals in China from May 2018 to June 2021 were enrolled. With the prospective, double-blind and randomized control methods, the patients were randomized into three groups: kidney deficiency group, Qi and blood deficiency group, and control group. The three groups were respectively treated with Bushen Shengxue prescription granule, Yiqi Yangxue prescription granule, and Placebo (half the dose of Bushen Shengxue formula granules). In addition, all of them were given oral cyclosporin and androgen. The treatment lasted 6 months, with 3 months as a course. The blood routine indexes, T cell subsets, and fusion genes T-bet and GATA3 before and after treatment were analyzed, and the safety indexes were monitored. **Result:** During the observation, a total of 75 cases dropped out and 18 were rejected. Finally, 161 cases in the kidney deficiency group, 164 in the Qi and blood deficiency group, and 167 in the control group were included. After 6 months of treatment, the total effective rate was 98.8% (159/161) in the kidney deficiency group, which was higher than the 79.9% (131/164) in the Qi and blood deficiency group ( $\chi^2=30.135$ ,  $P<0.01$ ) and the 61.7% (103/167) in the control group ( $\chi^2=70.126$ ,  $P<0.01$ ). The total effective rate was higher in the Qi and blood deficiency group than in the control group ( $\chi^2=13.232$ ,  $P<0.01$ ). After treatment, the hemoglobin (HGB) content increased significantly in three groups ( $P<0.05$ ) as compared with that before treatment, particularly the kidney deficiency group ( $P<0.01$ ). After treatment, the white blood cell (WBC) count and platelet (PLT) count in the kidney deficiency group and the control group increased compared with

those in the Qi and blood deficiency group ( $P<0.01$ ). There was no specific difference in neutrophils (ANC) after treatment among the three groups. At the same time point, the level of T helper type 1 (Th1) cells, Th1/Th2 ratio ( $P<0.05$ ), level of  $CD4^+$ , and  $CD4^+/CD8^+$  ratio ( $P<0.05$ ) were significantly low in the kidney deficiency group among three groups. There was no significant difference in  $CD19^+$ ,  $HLA/DR^+$ , and  $CD25^+$  between the kidney deficiency group and the other two groups, but the T-bet of the kidney deficiency group and the control group was lower than that of the Qi and blood deficiency group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Bushen Shengxue prescription exerts therapeutic effect on the aplastic anemia by improving the immunoregulatory mechanism, inhibiting the activity of immune system, modulating T cell subsets, suppressing Th1 and  $CD4^+$ , and promoting bone marrow hematopoiesis. Moreover, it is safe with little side effects, which is worthy of further promotion.

**[Keywords]** Bushen Shengxue prescription; chronic aplastic anemia; immune regulation; T helper type 1 (Th1) cell; T helper type 2 (Th2) cell; T-box expressed in T cells (T-bet); GATA binding protein 3 (GATA3)

慢性再生障碍性贫血(CAA),简称慢性再障,是一种以骨髓造血衰竭综合征,由于免疫功能异常致使髓腔内增生低下导致外周全血细胞减少,临床表现常伴有进行性贫血、各系统感染及内脏出血等症<sup>[1]</sup>。我国再障患病率高达7.4/10万,高出欧洲、非洲等<sup>[2]</sup>国家数倍,是全世界发病率最高的国家。1970年代初,现代医学将慢性再障明确定义为“髓劳”,认为病变部位主要在骨髓,“髓”代表其病位,并且涉及肝肾脾三脏;“劳”代表其病性,主要表现为疲劳等症<sup>[3-4]</sup>。目前针对再障国外的治疗,一线治疗方法包括以免疫抑制剂抗胸腺细胞球蛋白(ATG)或抗淋巴细胞球蛋白(ALG)联合环孢素(CsA)治疗,治愈率达60%~80%。由于ATG/ALG治疗价格较高,且过程中的不良反应较大,对于部分患者来说,治疗效果较差。二线治疗包括使用雄激素、造血生长因子注射用重组人促粒细胞刺激因子(G-CSF)、注射用促红细胞生成素(EPO)等<sup>[5-6]</sup>,对于患者而言经济负担重,不良反应大。欧美国家对于有关再障的诊疗规范片面强调免疫抑制的使用,忽视骨髓衰竭的病理因素,因而治疗方案除了造血干细胞移植就是免疫抑制剂,缺乏刺激造血和恢复骨髓功能的治疗<sup>[7-9]</sup>。

在国内中医药治疗再障从20世纪60年代以益气养血为主,疗效甚微,70年代依据“肾主骨、藏精,精血互生”的理论,认为再障的血细胞减少是标象,肾精亏损才是再障的根本原因。因此多数医家采用以补肾为主的中西医并用治法临床疗效得到显著提高,并成为现今治疗再障的最佳治法<sup>[10-11]</sup>,但也有部分医者认为益气养血治法仍是再障的有效治法。从所发表的资料来看,均为自身的历史对照,而无严格的多中心系统的随机对照研究。疗效提高的

真正原因是否由于补肾治法优于其他方法,针对这个问题设计了补肾生血法(补肾生血方出自于宋代《太平惠民和剂局方》的大菟丝子饮加减方)与益气养血法(益气养血方由八珍汤加减而来)的对比,用坚实数据证明补肾法的疗效优势。本研究旨在已经提出并发布再障的综合诊疗模式的基础上,试图通过客观指标观察以补肾为中心的中医药干预治疗再障随机对照研究的诊疗模式,系统规范研究以补肾为主综合治疗增加近期的有效率及疗效深度,进而达到提高生存质量的目的。对于本研究笔者评价了补肾生血方治疗慢性再障的临床疗效及其免疫调节作用。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究经组长单位中国中医科学院西苑医院伦理委员会批准(编号2018XLA036-3),共选择2018年9月至2021年5月分别就诊于中国中医科学院西苑医院、中国中医科学院广安门医院、北京中医药大学东直门医院、北京中医药大学东方医院、天津中医药大学第一附属医院、上海中医药大学岳阳医院、上海市中医医院、浙江省中医院、河南省中医院、山东中医药大学附属医院、湖南中医药大学第一附属医院、河北廊坊市中医院、吉林省人民医院、贵阳中医学院第二附属医院、沧州中西医结合医院、山东潍坊医学院附属医院、黑龙江中医药大学第一附属医院、甘肃省中医院、石家庄平安医院19家三甲医院单位门诊和住院部的585例患者,作为研究对象。采用随机、安慰剂平行对照临床研究设计,按照1:1:1的比例安排各组病例数,且根据既往临床研究有效率估算取补肾组90%,益气养血组80%,设置检验水准 $\alpha=0.05$ ,检验效能 $1-\beta=0.80$ ,考虑脱落因素,进行样本量20%的

扩大,确定每组样本量为188,因合并用药、误纳剔除18例,最终共567例再障患者入组,患者入组前均签署知情同意书。

本研究在多个分中心同时进行,由专业统计人员采用分层区组随机方法,应用SAS 9.3软件按参加中心病例分配数及随机比例生成随机数字分组表,再由临床研究组长单位及申办单位分别保存。3组患者性别、年龄、病程、脱落例数等一般资料差异不具有统计学意义,具有可比性,见表1。

表1 3组患者一般资料比较

Table 1 Comparison of general information between three groups

组别	例数	性别/例		年龄( $\bar{x}\pm s$ ) /岁	病程( $\bar{x}\pm s$ ) /年	脱落 /例	完成 /例
		男	女				
肾虚组	184	99	85	42.99±22.01	37.68±52.25	23	161
气血两虚组	191	101	90	42.02±22.41	35.88±51.55	27	164
对照组	192	105	87	44.14±17.14	26.66±45.01	25	167

## 1.2 诊断标准

**1.2.1 西医诊断标准参照** 再生障碍性贫血诊断标准参考《再生障碍性贫血诊断与治疗中国专家共识(2017年版)》<sup>[12]</sup>,多部位骨髓象表现是诊断再生障碍性贫血的主要手段。根据临床表现、外周血象、骨髓象、体征及实验室检查等结果最终判定。满足以下表现,①临床表现:贫血、感染、出血。②血象:血红蛋白、网织红细胞、中性粒细胞及血小板减低。③骨髓象:三系或两系减少,至少一个部位增生不良,如增生活跃,则淋巴细胞相对增多,巨核细胞明显减少;骨髓小粒中非造血细胞(如脂肪细胞等)增加。④体征:一般没有肝脾肿大。

**1.2.2 中医辨证分型标准** 参照全国中西医结合虚证与老年病专业委员会于1986年在河南制定的中医虚证诊断标准<sup>[13]</sup>。肾虚精亏证,主证为①腰脊酸痛;②脘酸膝软或足跟痛。次证为①耳鸣或耳聋;②发脱或齿摇;③尿后余沥或失禁;④舌质淡,舌苔白,脉沉细。气血亏虚证:主证为①面色苍白;②神疲乏力;③少气。次证为①懒言;②自汗;③舌淡胖或又齿印,脉虚无力或细数。证候诊断:具备主证2项+次证1项,参考舌脉,即可诊断。

**1.3 纳入标准** ①符合再障诊断标准;具备肾虚证的3项证候及气血两虚证的1项证候(包括主证与次证);②年龄>14岁,<80岁;肝肾功能正常;③患者均知情同意并签订知情同意书。

**1.4 排除标准** 引起全血细胞减少的其他疾病,如

阵发性睡眠性血红蛋白尿症、骨髓增生异常综合征、急性造血功能停滞、骨髓纤维化;先天性再障;合并严重心、脑、肝、肾疾病及精神病患者;妊娠、哺乳期妇女;对试验药物存在过敏反应者。

**1.5 剔除标准** 由于主观或客观原因,未按规定用药,或资料不全影响疗效判定者;治疗过程中转为骨髓增生异常综合征(MDS)、再生障碍性贫血与阵发性睡眠性血红蛋白尿综合征者(AA-PNH);治疗中出现严重的脏器功能不全,无法继续观察者。

## 1.6 治疗方法

**1.6.1 基础治疗** ①雄激素:司坦唑醇片(广西南宁百会药业集团有限公司,国药准字H45020728,规格2 mg/片),2~4 mg/次,每日3次,口服;或使用十一酸睾酮软胶囊(N. V. ORGANON,批准文号H20140962,规格40 mg/粒),40~80 mg/次,每日3次,口服;②免疫抑制剂:环孢素软胶囊(杭州中美华制药有限公司,国药准字H10960121,规格25 mg/粒):常用剂量为100~125 mg/次,2次/日,口服,环孢素血药浓度维持在100~250  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**1.6.2 中药治疗** 将中医辨证同时符合肾虚和气血两虚型的再障患者随机分为肾虚组、气血两虚组、对照组。①肾虚组,口服补肾生血方颗粒剂,方药组成:熟地黄30 g、菟丝子20 g、肉苁蓉15 g、巴戟天15 g、锁阳20 g、制首乌15 g、黄精20 g、补骨脂15 g,由北京康仁堂药业集团公司提供,制剂生产严格遵循《药品生产质量管理规范》(GMP)标准的中药免煎颗粒提供,批号XS1801427,同时进行基础西药治疗。②气血两虚组,口服益气养血方颗粒剂,方药组成:生地黄25 g、党参20 g、白术20 g、茯苓20 g、炙甘草15 g、当归20 g、川芎10 g、白芍20 g,北京康仁堂药业集团公司提供,批号XS1801427,同时进行基础西药治疗;两处方药物数量及重量均相等。③对照组,口服补肾生血方50%量做成重量相等的安慰剂(北京康仁堂药业集团公司提供,批号XS1801427)服用,中药颗粒每日1剂,分早晚服用,连用3个月为1疗程,连续2个疗程。

## 1.7 观察指标及方法

**1.7.1 疗效标准评估** 基本治愈:未见出血、贫血症状;女性血红蛋白(HGB)>100  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,男性HGB>120  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;血小板(PLT)>80×10<sup>9</sup>个/L;白细胞(WBC)>4×10<sup>9</sup>个/L;缓解:出血、贫血症状明显好转;女性HGB>100  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,男性HGB>120  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;PLT计数有一定程度上升;WBC>3.5×10<sup>9</sup>个/L;明显进步:出血、贫血症状有所好转;HGB较治疗前增加

30 g·L<sup>-1</sup>以上;无效:出血、贫血、血象均无好转。总有效率=(基本痊愈+显效+明显进步)例数/总例数×100%。

**1.7.2 外周血计数评估** 治疗前后采集3组患者空腹静脉血样本,采用XE-2100、SP-1000i型全自动血常规分析仪(希森美康公司)检测,比较治疗前后WBC、HGB、PLT、ANC的变化。

**1.7.3 T细胞亚群** 治疗前后采集3组患者空腹静脉血样本,使用Navios型流式细胞仪技术(美国贝克曼公司)检测,比较治疗前后T细胞亚群CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、HLA/DR<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>、Th1、Th2结果。

**1.7.4 T-bet、GATA3融合基因** 治疗前后采集3组患者空腹静脉血样本,T-bet及GATA-3融合基因检测由天津协和华美检测公司提供,抽取患者外周血2 mL,取送检标本中单个核细胞总RNA,并反转录为cDNA,使用AB7500型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国ABI公司)和TaqMan探针法定量检测标本中目的基因和内参基因ABL的拷贝数,定量检测结果用目的基因和内参基因拷贝数的比值表示,ABL拷贝数>1×10<sup>4</sup>为合格,目的基因mRNA水平=(目的基因拷贝数/ABL拷贝数)×100%。

**1.7.5 安全性指标** 治疗前后检测尿常规,采用UF-1000i、AX-4030型全自动尿液分析仪(希森美康

公司);检测肝、肾功,包括ALT、AST、血清总胆红素(TBIL)、血清直接胆红素(DBIL)、碱性磷酸酶(ALP)、BUN、Cr,采用Cobas8000型生化分析仪(罗氏公司);测定心电图MAC1200ST型心电图机(美国GE Medical Systems公司),并记录患者不良事件或不良反应。

**1.8 质量控制** 研究开始前对所有参研人员进行研究方案培训,各分中心单位采用ResMan网站填报在线进行数据录入和管理,中国临床试验注册中心注册号为ChiCTR-OOC-16009834。

**1.9 统计学方法** 采用SPSS 25.0统计学软件进行统计学分析,计量资料均符合正态分布且方差齐,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内采用配对t检验,组间比较采用单因素方差分析,先对3组进行分析,事后组间两两比较。计数资料应用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 3组患者临床疗效比较** 研究结果显示,3组患者治疗6个月,肾虚组总有效率高于气血两虚组( $\chi^2=30.135, P < 0.01$ );肾虚组总有效率显著高于对照组( $\chi^2=70.126, P < 0.01$ );气血两虚组总有效率显著高于对照组,差异有统计学意义( $\chi^2=13.232, P < 0.01$ )。见表2。

表2 3组患者临床疗效

Table 2 Comparison of clinical efficacy among three groups

组别	例数	基本痊愈/例(%)	缓解/例(%)	明显进步/例(%)	无效/例(%)	总有效率/%
肾虚组	161	6(3.7)	28(17.4)	125(77.6)	2(1.2)	98.8 <sup>1,2)</sup>
气血两虚组	164	1(0.6)	8(4.9)	122(74.4)	33(20.1)	79.9
对照组	167	0(0.0)	9(5.4)	94(56.3)	64(38.3)	61.7
总计	492	7(1.4)	45(9.1)	341(69.3)	99(20.1)	79.9

注:与对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与气血两虚组比较<sup>2)</sup> $P < 0.01$

**2.2 3组患者HGB、WBC、PLT、ANC水平比较** 治疗前3组患者HGB、WBC、PLT、ANC水平差异均无统计学意义,具有可比性。治疗后,与本组治疗前比较,3组患者的HGB有明显升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),且肾虚组HGB含量提高更为显著( $P < 0.01$ )。治疗后与气血两虚组比较,肾虚组与对照组的WBC及PLT均显著升高( $P < 0.01$ );3组患者治疗后ANC差异均无统计学意义。见表3。

**2.3 3组患者Th1、Th2比较** 治疗前3组患者Th1、Th2水平差异均无统计学意义,具有可比性。治疗后,与对照组和气血两虚组比较,肾虚组Th1、Th1/Th2水平均明显降低( $P < 0.05$ )。见表4。

**2.4 3组患者CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比较** 治疗前3组患者CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平差异均无统计学意义,具有可比性。治疗后,与对照组和气血两虚组比较,肾虚组CD4<sup>+</sup>水平、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>明显降低( $P < 0.05$ )。见表5。

**2.5 3组患者CD19<sup>+</sup>、HLA/DR<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>比较** 治疗前3组患者CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平差异均无统计学意义,具有可比性。治疗后,3组患者CD19<sup>+</sup>、HLA/DR<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>比较差异无统计学意义。见表6。

**2.6 3组患者T-bet、GATA3基因检测比较** 治疗前3组患者T-bet、GATA3基因检测水平差异均无统计学意义,具有可比性。治疗后,与气血两虚组比较,

表3 3组患者治疗后外周血象水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Comparison of changes in peripheral blood cells among three groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	时间	HGB/g·L <sup>-1</sup>	WBC(10 <sup>9</sup> )/个/L	PLT(10 <sup>9</sup> )/个/L	ANC(10 <sup>9</sup> )/个/L
肾虚组	161	治疗前	76.62±2.00	3.04±0.12	40.13±3.71	2.25±0.57
		治疗后	105.08±2.50 <sup>2)</sup>	3.34±0.11 <sup>2)</sup>	57.84±4.29 <sup>2)</sup>	1.98±0.36
气血两虚组	164	治疗前	81.20±2.46	3.31±0.18	47.26±6.61	1.63±0.10
		治疗后	94.16±2.35 <sup>1)</sup>	3.42±0.23	47.73±4.52	2.40±0.48
对照组	167	治疗前	80.47±2.52	3.02±0.12	36.23±4.25	2.68±0.25
		治疗后	86.81±2.63 <sup>1)</sup>	3.26±0.12 <sup>2)</sup>	52.76±5.11 <sup>2)</sup>	2.61±0.60

注:与本组治疗前比较<sup>1)</sup>P<0.05,<sup>2)</sup>P<0.01

表4 3组患者治疗后Th1、Th2、Th1/Th2水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 4 Comparison of changes in Th1, Th2, Th1/Th2 among three groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	时间	Th1/%	Th2/%	Th1/Th2
肾虚组	61	治疗前	12.58±6.92	17.18±8.89	77.22±5.33
		治疗后	11.50±8.68 <sup>1,2)</sup>	20.32±8.06	73.05±4.42 <sup>1,2)</sup>
气血两虚组	65	治疗前	13.08±6.85	18.50±9.22	76.70±7.63
		治疗后	13.58±3.90	18.83±8.21	78.11±7.59
对照组	57	治疗前	12.79±7.95	17.65±9.04	80.45±8.15
		治疗后	13.48±6.26	17.54±7.19	82.40±6.72

注:与对照组比较<sup>1)</sup>P<0.05;与气血两虚组比较<sup>2)</sup>P<0.05(表5、表7同)

肾虚组 T-bet 均明显降低,差异有统计学意义(P<0.05)。见表7。

表5 3组患者CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 5 Comparison of changes in CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> among three groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	时间	CD4 <sup>+</sup> %	CD8 <sup>+</sup> %	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
肾虚组	61	治疗前	32.13±16.64	28.07±14.39	1.76±0.67
		治疗后	29.80±15.18 <sup>1,2)</sup>	29.91±14.70	1.45±1.13 <sup>1,2)</sup>
气血两虚组	65	治疗前	32.54±17.22	28.09±16.72	1.65±1.26
		治疗后	32.61±14.86	29.28±17.05	1.67±0.82
对照组	57	治疗前	31.75±15.90	29.97±14.81	1.83±1.17
		治疗后	32.28±16.07	28.41±15.22	1.95±1.45

表6 3组患者CD19<sup>-</sup>、HLA/DR<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 6 Comparison of changes in CD19<sup>-</sup>, HLA/DR<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> among three groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	时间	CD19 <sup>-</sup>	HLA/DR <sup>+</sup>	CD25 <sup>+</sup>
肾虚组	61	治疗前	75.87±14.96	15.13±11.42	4.57±3.59
		治疗后	77.56±14.70	14.96±7.86	3.84±9.29
气血两虚组	65	治疗前	75.40±12.81	17.92±15.26	6.58±1.90
		治疗后	75.04±11.79	14.53±8.16	4.31±10.00
对照组	57	治疗前	76.93±10.07	16.06±14.21	4.63±4.86
		治疗后	74.01±11.84	16.50±4.82	3.22±9.62

### 3 讨论

CAA是一种未明确病因的免疫性疾病,在感染、药物或另一未知环境的触发条件下,激活的细胞毒性T淋巴细胞(CTL)通过识别I类或II类人类白细胞抗原(HLA)分子提供的自身抗原来破坏造血干细胞或使造血微环境得到破坏<sup>[14-15]</sup>,致使造血功能衰竭、外周全血细胞减少。越来越多的证据表明CAA的发病主要机制可能是由于T淋巴细胞及其细胞因子组成复杂的免疫网络,将免疫系统过度激活诱导骨髓衰竭<sup>[16]</sup>。针对此认识,现代医学推荐使用免疫抑制疗法(IST)治疗免疫过度激活引起的骨髓衰竭,但单一治疗往往难以奏效,且恢复期较长,恢复过程中现代医学仅对症治疗,一旦撤药临床症状立即浮现。

表7 3组患者治疗后T-bet、GATA3基因检测比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 7 Comparison of changes in T-bet, GATA3 among three groups ( $\bar{x}\pm s$ ) %

组别	例数	时间	T-bet	GATA3
肾虚组	61	治疗前	133.98±75.91	36.80±2.90
		治疗后	123.15±36.34 <sup>2)</sup>	34.50±2.64
气血两虚组	65	治疗前	141.16±25.07	36.46±4.39
		治疗后	132.32±42.66	31.69±7.68
对照组	57	治疗前	136.51±35.98	35.49±2.21
		治疗后	122.94±39.98	35.55±3.79

中医角度认为,CAA的临床症状及发病特点,常将其归属于“虚劳”“髓劳”范畴。对于髓劳的病因病机而言,各家对此认识不同,但终究不外乎“因虚致病”与“因邪致病”。髓劳与一般虚劳有所不同<sup>[17]</sup>,CAA多为因虚致病,久虚不复成劳。《病机沙篆》则进一步明确指出“血之源头在乎肾”,由于肾精亏损导致肾阴阳失衡,肾阳不振,致使骨髓造血匮乏,最终表现为气血虚损。“精气夺则虚”,肾精亏虚日久精血匮乏,无以化生气血。髓劳者主要表现为面色不华、唇甲淡、神疲体倦、懒言声低、头晕眼花、自汗、脉细。若阴阳表现突出者,阳虚损者主要表现为面色苍白、形寒肢冷、舌质淡胖伴有齿痕、脉沉细;阴虚损者主要表现为口干舌燥、五心烦热、盗汗、舌红少苔、脉细数等。之前尚未有大型前瞻性、随机、双盲、多中心临床研究观察再障的治疗。基于此,本课题组认为比较补肾生血法治疗再障是否优于益气养血法非常重要。

周霁祥教授应用宋代《太平惠民和剂局方》的大菟丝子饮加减治疗再障,效果显著,大菟丝子饮加减的制剂作为西苑医院院内制剂益肾生血片,有效率已经高达87%<sup>[18-19]</sup>。补肾生血方中以熟地黄为君,是补血之要药,有益精填髓之功。臣药为首乌、菟丝子、锁阳,有补肝肾、益精血之效,不燥不腻,为滋补之良药。肉苁蓉、巴戟天、补骨脂为佐,善补肾阳、益肾精。黄精为使,为平补气阴之佳品。诸药配伍,共奏补肾填精,生血养血之效。何首乌、菟丝子、肉苁蓉、补骨脂、巴戟天、锁阳等药可促进粒系与红系祖细胞增殖,从而改善疾病治疗有效率,并且可以修复因各种细胞信号激活引起的Th1/Th2免疫失衡,通过调节免疫促进骨髓造血系统恢复<sup>[20]</sup>。由此可见,补肾生血方在治疗再障时,通过调节患者免疫功能,促进骨髓增生,刺激造血。

熟地黄-何首乌具有较强的促进骨髓造血的功能,是治疗再障的主要药对,李玮等<sup>[17]</sup>研究表明熟

地黄作用于人体后,可增强免疫力,并且具有抑制肿瘤生长,促进造血的功能。肿瘤细胞的杀伤活性和抗肿瘤活性,由此可见熟地黄具有较强的抗肿瘤功能。祝慧凤等<sup>[21]</sup>研究表明,熟地黄对红细胞新生有明显的促进作用,可以改善贫血患者的红系降低的情况。对于虚劳患者来说,制首乌可以起到补肾益髓,养血益肝的作用,并且具有较好的滋养之功。药理学研究表明,制首乌中含有多糖类、二苯乙烯苷类、黄酮类、蒽醌类、磷脂类等化学成分<sup>[22]</sup>。丘小惠团队研究表明制首乌能明显提高再障模型大鼠的外周血红细胞计数、血红蛋白含量,促进造血,发挥其补血之功。由此可见,本方通过补肾填精,生血养血之功来提高外周血象<sup>[23]</sup>。

T-bet和GATA3是Th1和Th2细胞分化的主要调节因子,当Th细胞被非特异性激活,进而分泌过量的细胞因子IL-2、INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ ,致使Th1细胞数量显著增加,同时还可以抑制Th2增殖,在此过程中激活死亡因子(Fas)通路介导骨髓中造血干细胞凋亡,INF- $\gamma$ 可以活化自然杀伤细胞(NK),同时IL-2、INF- $\gamma$ 可以增强NK细胞的杀伤力,协同刺激CTL的增殖和分化,再合并免疫系统的异常激活,最终导致Th1/Th2失衡<sup>[24]</sup>。CD4<sup>+</sup>T细胞的分化由一组转录因子和转录因子转录的基因所决定的,在T细胞受体(TCR)介导的激活过程中,细胞因子IL-12和INF- $\gamma$ 使幼稚的CD4<sup>+</sup>T细胞高表达T-bet和STAT4并分化为Th1,而IL-4使幼稚的CD4<sup>+</sup>T细胞高表达STAT6和GATA3并分化为Th2<sup>[25]</sup>。

本研究最终结果表明,在血红蛋白含量方面,补肾生血方及益气养血方均可以一定程度上提高HGB含量,但补肾生血方治疗前后组内差异更为显著。在外周血小板含量方面,肾虚组及对照组提升血小板含量均优于气血两虚组,存在显著性差异。在调节CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>及Th1/Th2水平方面,肾虚组均优于其余两组,差异有统计学意义。最后表明补肾生血方对于治疗再障可能调节CD4<sup>+</sup>T细胞亚群水平,其最可能的机制是通过改善Th1细胞的极化作用,从而抑制免疫系统活化。最终结果虽然表明整体疗效气血两虚组优于对照组,但对于提升外周血细胞及T细胞亚群而言,对照组优于气血两虚组,故本研究认为,半量补肾生血方治疗疗效仍优于益气养血法。

综上所述,在补肾生血法治疗再障明显优于益气养血法,可提高外周血细胞数量,调节T细胞亚群,使Th1/Th2,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>达到平衡,进而抑制免疫

系统活性,促进骨髓造血,且安全性可观。本次研究未开展细胞因子层面探讨再障免疫的相关机制,为进一步探索补肾生血方治疗再障的免疫调节机制,未来有待进一步研究。

[利益冲突] 本研究不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 立新,苏力德,奥·乌力吉,等.再生障碍性贫血致病分子机制研究进展[J].中国现代应用药学,2021,38(17):2150-2155.
- [2] ALLY M, MAGESA P, LUZZATTO L. High frequency of acquired aplastic anemia in tanzania[J]. Am J Hematol, 2019, 94(4): 86-88.
- [3] 陈信义,陈珮.中医治疗血液病名家学术观点撷菁[J].北京中医药,2021,40(5):466-469.
- [4] 陈信义,麻柔,李冬云.规范常见血液病中医病名建议[J].中国中西医结合杂志,2009,29(11):1040-1041.
- [5] 周永明,薛志忠,夏丰,等.生血合剂对再生障碍性贫血患者CD-(34)~+细胞凋亡的影响[J].中国中医药科技,2001(3):141-142,135.
- [6] 李苗苗.愈增生血汤辅助治疗慢性再生障碍性贫血输血依赖患者的疗效评价[J].实用中西医结合临床,2021,21(17):27-28.
- [7] MARSH J C. Treatment of aplastic anaemia: First do no harm[J]. Lancet, 2000, 356(9241): 1536-1537.
- [8] BACIGALUPO A. How I treat acquired aplastic anemia[J]. Blood, 2017, 129(11): 1428-1436.
- [9] MELINKERI S R. Epidemiology, pathogenesis and diagnosis of aplastic anaemia[J]. J Assoc Physicians India, 2015, 63(3 Suppl): 8-12.
- [10] 唐旭东.再生障碍性贫血免疫功能与中医辨证分型的相关性研究[D].北京:中国中医研究院,2005.
- [11] 唐旭东.中西医结合治疗再生障碍性贫血用药选择预测系统的初步研究[D].北京:中国中医科学院,2008.
- [12] 付蓉.再生障碍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(1):1-5.
- [13] 沈自尹.中医虚证辨证参考标准[J].中西医结合杂志,1983(2):117.
- [14] SCHOETTLER M L, NATHAN D G. The pathophysiology of acquired aplastic anemia: Current concepts revisited[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2018, 32(4): 581-594.
- [15] GUAN J, SUN Y, FU R, et al. A cohort study of immune and hematopoietic functionality changes in severe aplastic anemia patients treated with immunosuppressive therapy [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(3): e14149.
- [16] 付蓉,王化泉,邢莉民,等.再生障碍性贫血的研究进展[J].中国实用内科杂志,2007,27(20):1647-1650.
- [17] 李玮,王秀丽,王青,等.熟地黄水提液对小鼠单核细胞分泌tnf-A的影响[J].标记免疫分析与临床,2009,16(1):27-28.
- [18] 周霁祥.再生障碍性贫血的临床治疗[J].中国中西医结合杂志,1992,12(9):555.
- [19] 周霁祥,王天恩,杨经敏,等.益肾生血片治疗再生障碍性贫血的实验研究[J].中国中西医结合杂志,1999,19(3):43-46.
- [20] 雍彦礼,孙凤.补髓生血颗粒对慢性髓劳病IL-21和IL-21 mRNA的影响[J].世界中西医结合杂志,2019,14(10):1339-1341,1371.
- [21] 祝慧凤,万东,陈怡,等.熟地黄水提物含药血清对Huvacs-1细胞增殖及Epo表达的影响[J].中国中药杂志,2008,33(13):1579-1582.
- [22] 黄霞,刘杰,刘惠霞.熟地黄多糖对血虚模型小鼠的影响[J].中国中药杂志,2004,29(12):50-52.
- [23] 丘小惠,宋艳刚,孙景波,等.不同炮制工艺制首乌对大鼠血虚模型的作用研究[J].中药材,2008,30(1):14-17.
- [24] 黄莉荣,薛征.基于Th\_1/Th\_2失衡探讨再生障碍性贫血中西医结合治疗研究进展[J].陕西中医,2021,42(11):1644-1647,1651.
- [25] 何亚利,梁顺容,钟一梅. T淋巴细胞亚群与炎性因子在评估再生障碍性贫血病情及预后中的应用[J].国际检验医学杂志,2015,36(17):2516-2518.

[责任编辑 张丰丰]